

**Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Abdichtung
und Organisation blutdurchströmter Dacrongefäßprothesen am
Miniatschwein
(Unter besonderer Berücksichtigung der Thrombozytenfunktion)**

Gerhard – Ludwig Lisson

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549006_0035

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof.Dr.N.Zöllner

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Abdichtung
und Organisation blutdurchströmter Dacrongefäßprothesen am
Ministurschwein
(Unter besonderer Berücksichtigung der Thrombozytenfunktion)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gerhard-Ludwig Lisson

aus

Iffeldorf

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter:	Prof. Dr. N. Zöllner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. R. Wetzstein
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 17. Oktober 1978	



Herrn Prof.Dr.Hess möchte ich an dieser Stelle für die
liebenswürdige Überlassung des Themas danken.

Herrn Dr.Marshall für seine stete,aufopferungsvolle Hilfs-
bereitschaft und Beratung meinen aufrichtigen Dank.

Eine große Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit war auch
die wissenschaftliche und finanzielle Unterstützung der
Firma B.Braun-Dexon.

Inhaltsverzeichnis

<u>A. Fragestellung und formaler Aufbau der Arbeit</u>	77
<u>B. Literaturübersicht</u>	9
I. Initiale Abdeckung von Fremdkörperoberflächen durch Proteine bei Blutkontakt	9
II. Biologische Eigenschaften von Blutplättchen	10
1. Entstehung und Aufgaben	11
2. Morphologie im klassischen Elektronenmikroskop	14
3. Morphologie im Rasterelektronenmikroskop	16
4. Biochemie	18
5. Visköse Metamorphose und "release reaction"	19
6. Einfluß von Schock und extrakorporalem Kreislauf auf die Thrombozytenfunktion	20
III. Adhäsion von Blutplättchen an Fremdkörperoberflächen	20
1. Prinzipielle Mechanismen	20
2. Die Rolle einiger biologischer und physikalischer Parameter	20
a) Oberflächenspannung	20
b) Oberflächenladung	22
c) Strömungsbedingungen	26
d) Kofaktoren der Adhäsion	29
IV. Fibrinogenese, Fibrinolyse und Interferenz Fibrinogenese-Thrombozytenverhalten	30
V. Einbau von Gefäßprothesen in den Wirtsorganismus (Licht- und elektronenmikroskopische Befunde an implantierten Prothesen)	35
<u>C. Material und Methode</u>	41
I. Der Kunststoff Dacron als Prothesenmaterial	41
1. Chemie und Physik	41
2. Verarbeitung zur Prothese	42
3. Bedeutung in der Medizin	43
II. Das Miniaturetschwein als Versuchstier	43
III. Funktion und Vorteile des Rasterelektronenmikroskops	45
IV. Aufarbeitungsmethode der Prothesen	46
V. Narkoseverfahren	47

VI.Operationstechnische Prinzipien	47
1.Shuntherstellung	47
2.Prothesenimplantation	49
3.Patchaufnähung	49
<u>D. Tabellarische Übersicht über alle durchgeführten Ver-</u> <u>suche</u>	50
<u>E.Ergebnisse</u>	55
I.Befunde an Dacronprothesen im blutdurchströmten, extrakorporalen Shunt	55
1.Bildmaterial	55
2.Zusammenfassende Beschreibung	60
II.Befunde an implantierten Dacronprothesen	62
1.Bildmaterial	62
2.Zusammenfassende Beschreibung	64
III.Ergebnisse der quantitativen Untersuchung des Blutverlustes aus Dacronprothesen im extrakorpo- ralen,blutdurchströmten Shunt	66
1.Diagramme und Übersicht	66
2.Zusammenfassende Beschreibung	72
<u>F. Diskussion</u>	73
I. Ergebnisse des Shuntversuches	73
1.Erfäßbarkeit der primären Proteinschicht im Rasterelektronenmikroskop	73
2.Zeitpunkt der frühesten Adhäsion von Thrombo- zyten	73
3.Wirksame Parameter für das Adhärentwerden der Blutplättchen in unseren Versuchen	74
4.Rolle der Thrombozyten bei der Abdichtung der Prothese	76
5.Auftreten des ersten Fibrins	77
6.Morphologische Befunde an Blutplättchen und Pseudopodien	78
7.Einfluß des Schockgeschehens und des extra- korporalen Kreislaufs auf das Versuchsergebnis	80

II. Ergebnisse der Implantationsversuche .	81
1. Auftreten der ersten Neoendothelzellen	81
2. Struktur der Neointima im Rasterelektronenmikroskop	81
3. Thrombosierung der Implantate	82
III. Interpretation des quantitativen Blutungsversuches	82
<u>G. Zusammenfassung</u>	83
<u>H. Bildteil</u>	85
<u>I. Literaturverzeichnis</u>	94
<u>J. Lebenslauf</u>	105

A. Fragestellung und formaler Aufbau der Arbeit

Mit Hilfe der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungstechnik, des Literaturstudiums und eines einfachen, quantitativen Meßverfahrens versucht diese Arbeit Antwort auf die drei folgenden Fragenkomplexe zu geben:

1. Welche morphologisch faßbaren Prozesse laufen bei der Abdichtung von nicht "preclotteten"^① blutdurchströmten Dacron-Gefäßprothesen in den ersten Minuten ab?
Über welche Mechanismen beteiligen sich die Thrombozyten am Versiegelungsprozeß?
Bewerkstelligen sie allein die Abdichtung der porösen Prothese, oder spielen vielmehr andere zelluläre Elemente und Fibrin die entscheidende Rolle?
Welchen Stellenwert haben diese drei Faktoren und wie wirken sie zusammen?
Wie stellt sich die Abhängigkeit zwischen dem Adhärenzwerden der Blutplättchen und verschiedenen biologischen und physikalischen Parametern dar?
2. Der Blutverlust durch die durchströmte Dacron-Gefäßprothese als Funktion der Perfusionszeit spiegelt den fortschreitenden Abdichtungsprozeß wieder. Lassen sich Zusammenhänge zu morphologischen Befunden herstellen?
3. Wie sieht die Neointima von implantierten Dacron-Gefäßprothesen im Rasterelektronenmikroskop aus? Wann lassen sich die ersten neugebildeten Endothelzellen nachweisen?

Die Versuche wurden an Ministurschweinen durchgeführt. Entsprechend den drei Fragenkomplexen benützten wir drei Versuchsmodelle, die später eingehend beschrieben werden.

① Unter "preclotting" versteht man das Abdichten der Prothese vor der Implantation durch Wälzen im Blutsee.

- Ad 1: Dacron-Gefäßprothese im extrakorporalen, blutdurchströmten arteriovenösen Shunt zwischen zwei Kathetern.
- Ad 2: wie 1, jedoch Messung des verlorenen Blutes im Meßkolben.
- Ad 3: Implantation einer Dacron-Gefäßprothese nach den Regeln der Gefäßchirurgie.

Analog zu diesem Vorgehen unterteilt sich der Abschnitt "Ergebnisse" in die Teile I, II und III.

Diese Arbeit ist ihrem Wesen nach morphologisch ausgerichtet. Besondere Beachtung wird dem Verhalten der Thrombozyten gewidmet und ihr außerordentlich variables und wichtiges biologisches Verhalten demonstriert.

"Im Stadium nascendi der Angiopathien kommt es zu den ersten Thrombozytenadhäsionen, die sich dann in der gezeigten Weise bis zur obliterierenden Thrombose fortentwickeln können... Das Stadium der irreversiblen obliterierenden Arteriosklerose ist durch Inkorporation und Organisation der intravasalen Thrombose gekennzeichnet!" (1)

Setzt man die Versuchstiere Kaninchen und Miniaturschwein solchen Noxen aus, die beim Menschen Risikofaktoren der Arterioskleroseentstehung darstellen, so lassen sich mit dem Rasterelektronenmikroskop die oben beschriebenen initialen Plättchenadhäsionen sichtbar machen. (1,2,3,4,5)

Die Klärung aller drei Fragenkomplexe kann dazu beitragen festzustellen, ob die Befunde mit denen bei der Arterioskleroseentstehung, auch hier handelt es sich um Adhäsion und Organisation, vergleichbar sind.

Wäre dies der Fall, so könnte man die Ergebnisse der Prothesenversuche für das Studium der Arterioskleroseentstehung verwenden.

B. Literaturübersicht

I. Initiale Abdeckung von Fremdkörperoberflächen durch Proteine bei Blutkontakt

Bringt man eine Fremdkörperoberfläche in Kontakt mit Blut, so wird zunächst nur Eiweiß adsorbiert. Bereits nach einigen Sekunden beträgt die mittlere, optisch gemessene Dicke des Proteinfilmes ca. $5 \cdot 10^{-9}$ m. Die Spektren dieses Belages stimmen überein mit denen von α -Helices oder auch Zufallskonfigurationen. Filme aus gereinigtem Fibrinogen auf Platinfolien zeigen gleiche Spektren. Deshalb nimmt man heute an, daß es sich beim initialen Proteinbelag um eine Ablagerung von Fibrinogen handelt. Untersuchungen von Dutton et al. (1969) zeigen, daß die Oberfläche von Kunststoffplatten vollständig von Eiweiß bedeckt ist und Thrombozyten nur an dieser Schicht, niemals jedoch an der Fremdkörperoberfläche unmittelbar, adhären werden. (6)

Nach Befunden von Gugler et Luscher (1963), Inceman et al. (1966) und Mustard et al. (1967) ist Fibrinogen für die Adhäsion von Thrombozyten an Kunststoffoberflächen unabdinglich. Dutton et al. (1969), Packham et al. (1969) und Zucker und Vroman (1969) kommen zu der Überzeugung, daß zuerst Fibrinogen adsorbiert werden muß, damit Thrombozyten überhaupt adhären werden können. (7)

Der primär gebildete Proteinteppich spielt eine entscheidende Rolle bei der Adhäsion, "release reaction" und Aggregation von Thrombozyten. (6)

Packham et al. (1969) und Jenkins et al. (1973) untersuchten den Einfluß von definierten Eiweißschichten auf das Plättchenverhalten. Dabei ergab sich:

Fibrinogen	-Adhärenz beschleunigt "release-reaction" nicht stimuliert
γ -Globulin	-Adhärenz, Aggregation und "release-reaction" beschleunigt
Albumin	-Adhärenz vermindert

Der Proteinfilm, der in einer Minute seine endgültige Dicke von $10 \cdot 10^{-9}$ m erreicht, scheint die Information der eigentlichen Oberflächen in das Blut zu vermitteln. Das heißt, daß das Substrat, z.B. Dacron, den Charakter der Eiweißschicht determiniert und letztere die effektive Oberfläche für das Thrombozytenverhalten darstellt. Dabei kann die eigentliche Oberflächeneigenschaft schon durch einen Belag von Molekularstärke total verändert werden. So kann zum Beispiel eine Oberfläche mit hoher Oberflächenspannung in eine solche mit niedriger übergeführt werden. (6)

II. Biologische Eigenschaften von Blutplättchen

1. Entstehung und Aufgaben

Im Knochenmark entstehen Thrombozyten über folgenden Reifungszyklus: determinierte Knochenmarkstammzellen → Megakaryoblasten → basophile Megakaryozyten → granuläre Megakaryozyten → thrombozytenbildende Megakaryozyten → reife Thrombozyten. Dabei läuft eine Reihe von Kernteilungen ohne Zellteilung ab, die zur Ausbildung der polyploiden, thrombozytenbildenden Megakaryozyten führen, deren Fortsätze sich als Thrombozyten abschnüren. (10, 11, 99)

Was die Aufgaben der Blutplättchen betrifft, so lassen sich drei Teilfunktionen unterscheiden:

1. Entstehung des hämostatischen Pfropfes.
2. Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems. So ist die "release reaction" unabdingbare Voraussetzung für das Zustandekommen der Gerinnung im "intrinsic system".
3. Erhaltung der Gefäßfunktion. "Es ist eine Leistung der Gefäßwand, daß das zirkulierende Blut ständig flüssig bleibt (Roka), wie es eine der Aufgaben des Blutes ist, die Gefäßwand intakt zu halten." (1)

2. Morphologie im klassischen Elektronenmikroskop

Die Erforschung von Thrombozytenform und -größe im strömenden Blut ist äußerst problematisch, da jede Manipulation bei der Präparation zu Änderungen der Plättchenmorphologie führt. Man kann jedoch sagen, daß es sich um scheibenartige, flache, bikonkave, zum Teil aber auch kugelige Gebilde handelt. (11, 12, 99)

Ihr Durchmesser beträgt $2,0-5 \cdot 10^{-6} \text{ m}$, ihre Dicke $0,5-0,75 \cdot 10^{-6} \text{ m}$. (99)

Elektronenoptisch unterteilt man den Thrombozytenkörper in drei Zonen:

1. äußere Zone: Glycoproteinmantel + "unit membrane" + zentralwärts unmittelbar anschließender Saum
2. Sol-Gelzone: enthält Mikrotubuli und Mikrofilamente
3. Organellenzone (99)

Thrombozyten besitzen eine "unit membrane", die ihrerseits von einem $150-200 \cdot 10^{-10} \text{ m}$ dicken Mantel aus amorphen Glycoprotein und adsorbierten plasmatischen Gerinnungsfaktoren abgedeckt ist.

(11, 13, 99)

Als Stütz- und Kontraktionselemente dienen Mikrotubuli (enthalten Thrombosthenin A) und Mikrofilamente (enthalten Thrombosthenin M). Letztere sind für die "clot retraction" verantwortlich. (11, 99)

An Organellen enthalten Thrombozyten:

d-Granula	offenes Kanälchensystem
Glycogengranula	dichtes tubuläres System
dichte osmophile Körper	inaktiver Golgi-Apparat
Mitochondrien	

(11, 99)

Thrombozyten enthalten keine Kerne und Ribosomen. Die Anordnung der oben aufgeführten Elemente geht aus den zwei nachfolgenden Schemata hervor. (11)

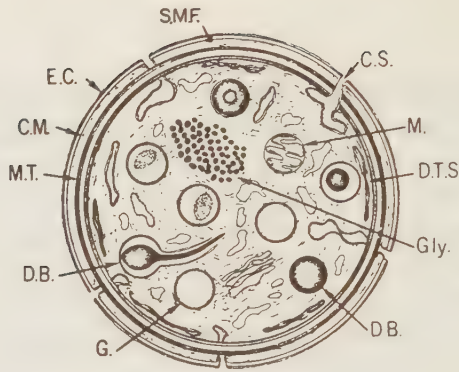


FIGURE 6.5. Diagram of a platelet in equatorial section. EC, external coat; CM, cell membrane; SMF, submembranous microfilaments; MT, microtubules; DTS, dense tubular system; CS, surface-connected system; G, α -granule; DB, dense body; M, mitochondrion; Gly, glycogen granules.

Aus (11) S.244

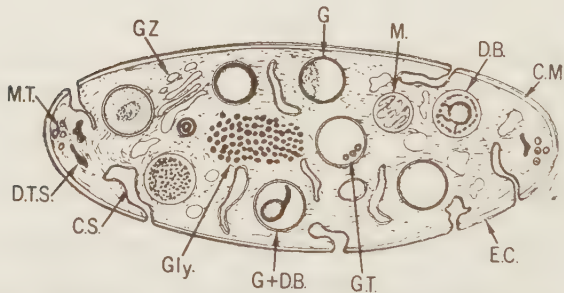


FIGURE 6.7. Diagram of a platelet in transverse section. GT, tubules within an α -granule; GZ, Golgi zone; other symbols as in Fig. 6.5. Figs. 6.4-6.7 are reproduced from White [159, 159a and 159b], by kind permission of the author and publishers.

Aus (11) S. 245

Blutplättchen können kugelige Formen annehmen, Pseudopodien bilden und auf Oberflächen adhären. Ferner ist Aggregatbildung und Fusion möglich. (11, 12, 13, 14, 15)

Eine genaue elektronenmikroskopische Untersuchung der Pseudopodien stammt von Warren (1971). Demgemäß enthalten die Fortsätze Mikrotubuli als Kontraktionsapparat und ein polyvesikuläres, membranöses System aus Primär- und Sekundärvesikeln. Bei der viskösen Metamorphose bilden sich zunächst dünne, fädige Pseudopodien aus, später dickere. Plättchen kleben gut an Fibrin.

In Fibrinnetzen, so berichtet Warren (1971), haben sie wenig Pseudopodien. Aggregatbildung ist ohne visköse Metamorphose selten, jedoch ab und zu zu beobachten. (14)

Ruzicka und Fierkens (1971) untersuchten auf Glasobjektträgern adhärent gewordene Thrombozyten. Dabei ließen sich vier typische Formen beobachten:

A: Vollständig ausgebreitete Formen

Typ A₁: Riesenformen und große Ausbreitungsformen

Typ A₂: Mittlere und kleine Ausbreitungsformen

B: Teilweise ausgebreitete Formen

Typ B₁: Sternförmig ausgebreitete Formen

Typ B₂: Wenig ausgebreitete Formen

C: Nicht ausgebreitete Formen

D: Formen mit netzig erscheinender Oberfläche

(15)

Ähnliche morphologische Klassifizierungen stellten Breddin (lichtmikroskopisch) und Gebauer (rasterelektronenmikroskopisch) auf. (15)

Haydon (1957) tauchte mit Formvarfilmen beschichtete Drahtschleifen in Blut und untersuchte unter Benutzung eines neuen Präparationsverfahrens die abgeschiedenen Elemente elektronenmikroskopisch.

Demnach sind die zunächst adhärennten Thrombozyten klein und kompakt und besitzen nur wenig Pseudopodien. Nach 5 Sekunden ändert sich das Bild wesentlich: die Zahl der ausgebreiteten Formen nimmt zu. Die Pseudopodien sind jetzt zahlreicher und länger. Niemals beträgt die Länge der Fortsätze jedoch mehr als das Doppelte des Thrombozytendurchmessers. Haydon (1957) nimmt an, daß sich zunächst nur die meist keulen- (zum Teil auch punktförmigen) Enden der Pseudopodien an der Formvaroberfläche anheften und der Körper erst sekundär adhärennt wird. Fibrin tritt erst nach Ablauf der physiologischen Gerinnungszeit auf, es ist am Formvarfilm befestigt und entsteht örtlich unabhängig von bereits adhärennten Plättchen. Dünne Fasern konfluieren zu dicken Kabeln, die manchmal an elektronendichten Teilen von Thrombozyten haften. Niemals reichen Pseudopodien in

Fibrinstränge hinein. Die Abgrenzung dieser Strukturen ist leicht möglich, da sie eine unterschiedliche Elektronendichte besitzen. Nach Haydon (1957) ist das gerinnungsfördernde Prinzip der Thrombozyten nicht nur an ihre unmittelbare Nähe gebunden, sondern eher diffus wirksam. (12)

Früher glaubte man, daß am Ende der viskösen Metamorphose immer die totale Verschmelzung und Strukturauflösung der Blutplättchen stünde.

Nach Untersuchungen von Castaldi et al. (1962) kommt es nur selten zur Fusion der "unit membranes". Meistens bleiben die Thrombozyten trotz des geringen Abstandes zum nächsten Thrombozyten als Individuum bestehen. Während des Verschmelzungsprozesses, so Castaldi et al. (1962), beobachtet man das Verschwinden der sogenannten "dense granules" und eine teilweise (selten auch vollständige) Auflösung der Zellstrukturen. Fibrin können die Autoren nach 160 Sekunden (Prothese im nicht strömenden Blut) sehen. (16)

Die Retraktion eines Fibringerinnsels, bewerkstelligt vom Thrombosthenin, bringt strukturell keine Neuigkeiten. (11, 16)

3. Morphologie im Rasterelektronenmikroskop

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Form und Größe isolierter, nicht adhärenter Thrombozyten des fließenden Blutes führten durch (in zeitlicher Reihenfolge): Clarke and Salisbury (1967), Inoshita et al. (1969), Hattori et al. (1969) (17), Hovig (1970) (20), Murphy (1972) (18) und Shimamoto et al. (1973) (19). Die beiden ersten Arbeiten haben infolge mangelhafter Beschreibung und Präparationstechnik wenig Aussagekraft.

Rasterelektronenmikroskopische Beobachtungen von an Gefäßwänden adhärenen Thrombozyten in allen Stadien der viskösen Metamorphose stammen von Shimamoto et al. (1973) (19) und der Arbeitsgruppe Hess mit ersten Veröffentlichungen bereits 1969. (1, 2, 3, 4, 5)

Hattori et al.(1969) beschrieben 15 sofort fixierte Thrombozyten aus strömendem Blut. Bis auf einen Thrombozyten mit kugelförmiger Form fanden sich ausschließlich gleichmäßig ellipsoide Gebilde mit einem Längsdurchmesser von $1,8-3,0 \cdot 10^{-6}$ m. Die Oberfläche war glatt, einige Plättchen hatten Erhebungen und konische Eindrücke. Vier Thrombozyten wiesen spornartige Auswüchse auf, lange Pseudopodien waren nicht sichtbar. (17)

Der ellipsoide Typ entspricht nach Hess et al.(1974) der "Kuheform", der kugelige Typ der "Reizform", die aggregations- und adhäsionsbereit ist und Pseudopodien bilden kann. (1)

Hattori et al.(1969) sahen in länger inkubierten und zentrifugierten Blutproben eine Zunahme von kugelförmigen Formen und Pseudopodien, die wohl Ausdruck einer Teilaktivierung war. Thrombinzusatz machte die Zeichen der viskösen Metamorphose sichtbar: Pseudopodienformation, Schwellung, Degranulation, Kugeligwerden, Aggregation und Ausbildung von Protrusionen. Das Fibrinnetz trat ca. 15 Sekunden nach Zusatz von Thrombin auf (Dicke der Fasern ca. $0,1 \cdot 10^{-6}$ m). Thrombozyten schienen in den knopfartigen Kreuzungspunkten der Fasern zu liegen. Eine Zunahme der Pseudopodien trat erst 10 Sekunden nach Thrombinzusatz auf. Ihre Ausbildung durchlief höchstwahrscheinlich die Reihe Erhebungen → Protrusionen → Sporne → Pseudopodien. (17)

Nach Shimamoto et al. (1973) sind die an einer ladierten Gefäßstelle primär adhärent werdenden Thrombozyten alle kugelig (mit einigen Pseudopodien). Nach 30 Sekunden erst finden sich Fibrin, Erythrozyten, kugelförmige Thrombozyten, aber noch keine ausgebreiteten Blutplättchen. (19)

Entsprechende Befunde finden sich schon bei Hess(1970). (2)

Chemische Analysen ergeben, daß Thrombozyten folgende Substanzen enthalten:

a) Adeninnukleotide;

in erster Linie ADP, in zweiter ATP; für beide Substanzen existiert je ein Speicherpool und ein Stoffwechselfool (11,22,99)

b) 5-Hydroxytryptamin (Serotonin, 5HT) und Adrenalin:

den Speicherpool bilden die "dense bodies"; beide Substanzen finden sich auch außerhalb dieser Speicher im sog. Stoffwechselfool (11,22,99)

c) Plättchengerinnungsfaktoren (greifen in die Fibrinogenese ein)

PF 1: adsorbiertes Protein, das dem Gerinnungsfaktor V ähnelt; beschleunigt die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin (11,99)

PF 2 intrazelluläres Protein, das die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin fördert (11,99)

PF 3: intrazelluläres Lipoprotein; ist zur Bildung der Blutthrombokinasen im "intrinsic system" (zusammen mit den Gerinnungsfaktoren V, VII, IX, X, XI) erforderlich (11,99)

PF 4: intrazelluläres Protein in den "dense granules"; wirkt als Heparin-Inhibitor; neutralisiert den inhibitorischen Effekt von Fibrinogenabbauprodukten auf Thrombin und auf die Plättchen (11,99)

PF 5: adsorbierte, fibrinogenähnliche Substanz; steigert die Adhäsivitäts- bzw. Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten (99)

PF 6: intrazelluläres Protein, evtl. identisch mit Gerinnungsfaktor VII; beschleunigt die Prothrombinumwandlung zu Thrombin bei Anwesenheit von PF 1 (99)

PF 7: intrazelluläres Protein, entspricht dem Thrombosthenin M bzw. A; actomyosinähnliche, kontraktile Substanz, die die Gerinnselretraktion bewirkt (11,23,24,25,99)

Pf 8: intrazelluläres Protein; hemmt Plasmin (99)

PF 9: intrazelluläres und adsorbiertes Enzym; stabilisiert den Thrombozyten-Fibrinkomplex (99)

PF 10: intrazelluläres Enzym; aktiviert Plasminogen (99)

In den Thrombozyten findet man ferner:

Plasminogenaktivator	Plasminogen
β -Glucuronidase	Histamin(nur bei Tieren)
Fibrinogen	
K, Ca ⁺⁺	
Albumin	(11,99)

An die Plättchenoberfläche sind adsorbiert:

IF 1	Gerinnungsfaktoren
EF 5	VIII, IX, XI, XII
FF 9	Fibrinogen
	(11,99)

Der Stoffwechsel von Thrombozyten ist im Vergleich mit anderen Blutzellen äußerst aktiv, wobei die Glycolyse dominiert. (99)

5. Visköse Metamorphose und "release reaction"

"Unter visköser Metamorphose der Thrombozyten-der Begriff stammt von Ebert und Schimmerbusch(1886)-versteht man die Summe aller morphologischen,biochemischen und funktionellen Veränderungen, die Thrombozyten unter der Einwirkung von Thrombin erfahren". (99)

Im einzelnen sind dies Pseudopodienbildung und Quellung der Thrombozyten,der schließlich eine teilweise Strukturauflösung folgt,sowie die Aggregation bzw.Adhäsion und die irreversible Fusion der Thrombozyten mit "release-reaction".(98,11,99)

Die "release-reaction" bedeutet eine Entleerung von Granula: Granula und "dense bodies".Induziert wird dieser Vorgang,der nicht das Durchlaufen aller Stadien der viskösen Metamorphose voraussetzt,durch Kollagen,Thrombin,ADP,Adrenalin,Trypsin und die Adhäsion.Ob Fremdkörperkontakt bzw. Adhäsion jeweils allein die "release-reaction"auslösen können,geht aus der Literatur nicht klar hervor.Bei diesem Prozess werden frei: (11,99)

ADP,ATP	Fibrinogen.	PF 4
Serotonin	K,Ca	PF 3
Adrenalin	Albumin	Thrombosthenin
Histamin	lysos.Enzyme(z.B. Glucuronidase)	

(11,99)

Plättchenfaktor 3 und 4,sowie Fibrinogen können allein durch Gewebekontakt oder Aggregation freigesetzt werden. (11,27,28)

Teilvorgänge der viskösen Metamorphose können ausgelöst werden durch Kollagen,ADP ,Adrenalin,Trypsin und Adhäsion.(11)

6. Einfluß von Schock und extrakorporalem Kreislauf auf die Thrombozytenfunktion

Jede Operation größeren Ausmaßes, z.B. ein Teil unserer Versuche mit erheblichem Blutverlust und Gewebeläsion, kann zum traumatisch-hämorrhagischen Schock führen. Dabei entsteht eine nicht unerhebliche Beeinflussung des Thrombozytenverhaltens.

Initial kommt es zu einer Hyperkoagulabilität, die durch Verbrauch von Thrombozyten und Plasmafaktoren in eine Phase der Hypokoagulabilität übergeht. (29)

Im einzelnen findet man beim traumatisch-hämorrhagischen Schock, der durch Blut- und Plasmaverlust, sowie Freisetzung von Gewebefaktoren gekennzeichnet ist:

- eine ausgeprägte Thrombozytopenie
- erhöhte Adhäsivität der Thrombozyten während der Blutung. (Lungqvist und Bergentz 1971, Swank 1962)
- ein biphasisches Auftreten von Thrombozytenaggregaten in der Zirkulation (Lauterjung 1971) mit einem ersten Maximum zu Beginn der Blutung und einem zweiten zur Zeit des größten Blutverlustes
- eine erhöhte Aggreabilität der Thrombozyten

(30)

Auch der extrakorporale Kreislauf über "Shunts" aus Kunststoff und anderen Fremdmaterialien beeinflusst das Thrombozytenverhalten.

Encke und Mitarbeiter (1972) untersuchten das Verhalten von Thrombozyten beim extrakorporalen Kreislauf über die Herz-Lungen-Maschine. Bei Beginn der Durchströmung beobachteten die Autoren einen besonders starken zahlenmäßigen Schwund, der anhielt und nach Ende des "Shunts" in einen vorübergehenden Thrombozytenanstieg überging. Bezüglich des Ausbreitungsverhaltens auf Fremdkörperoberflächen zeigte sich eine Rechtsverschiebung, das heißt Zunahme kleiner nicht mehr ausbreitungsfähiger Formen. Aggregations- und Adhäsionsneigung der Plättchen wuchsen an, ADP wurde freigesetzt. (31)

III. Adhäsion von Blutplättchen an Fremdkörperoberflächen

1. Prinzipielle Mechanismen

Die Parameter, die das Adhärenzwerden von Plättchen an Oberflächen beeinflussen sind experimentell ziemlich genau untersucht worden.

Über die eigentlichen Mechanismen der Plättchenadhärenz hingegen herrscht Unklarheit, sodaß auf dieses Problem nicht näher eingegangen werden soll.

Letztlich sind es entweder chemische Bindungen oder elektrische Kräfte, die die Thrombozyten an der Oberfläche festhalten. Dabei spielt ein System von 5 auf der Thrombozytenoberfläche lokalisierten Molekülgruppen eine Rolle:

-positiv geladene Aminogruppen	(Mehrishi 1970-94)
-Phosphatgruppen	(Mehrishi 1970-95)
-SH-Gruppen	(Mehrishi 1969-96)
- -Carboxylgruppen	(Madoff et al.-97)
-nicht identifizierte anorganische Gruppen	(Mehrishi 1970-94)

2. Die Rolle einiger biologischer und physikalischer Parameter

a) Oberflächenspannung

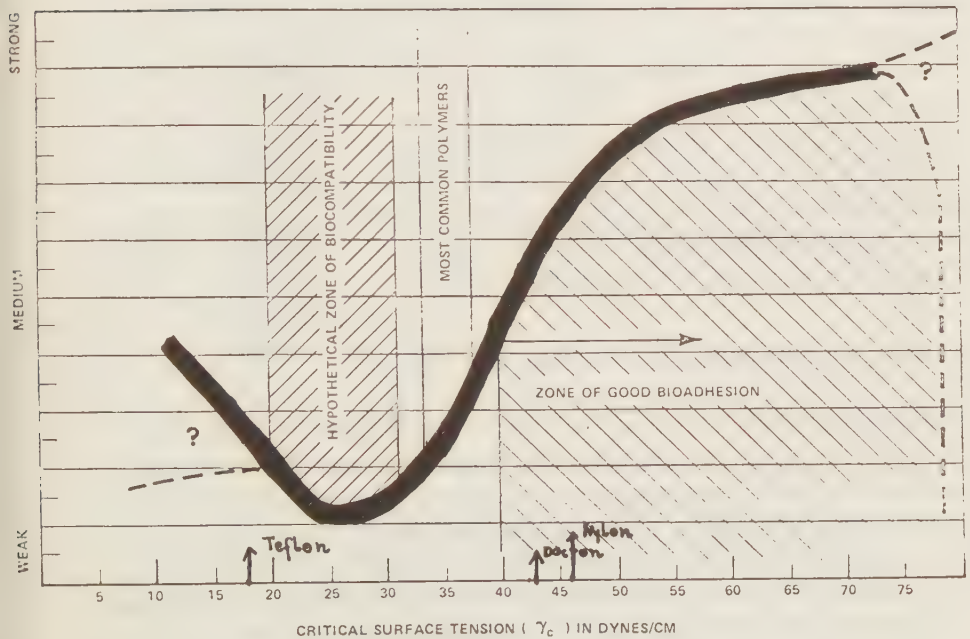
Gemeint ist damit die sogenannte "kritische Oberflächenspannung" mit den Einheiten erg/cm^2 oder dyn/cm . Nach Baier (1972) hat sie die größte Aussagekraft bei der Beurteilung der Thrombozytaphobie bzw. Thrombozytophilie eines Materials. (32)

Zisman (1964) ermittelte die Werte für die wichtigsten synthetischen Materialien mit Hilfe von Kontaktwinkelstudien. Die Stellung von Dacron unter anderen Kunststoffen ist der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Teflon	18	dyn/cm bei 20°C
Dacron	43	dyn/cm bei 20°C
Nylon	46	" " " " "

Wie die Versuche von Lyman et al.(1970) in der blutdurchströmten Kammer zeigten,hängt bei einer Strömungsdauer von einer Minute die Zahl der adhärenen Plättchen signifikant von der kritischen Oberflächenspannung ab.Mit zunehmendem γ_c nimmt auch die Zahl der adhärenen Thrombozyten pro $20\ 000\ m^2 \cdot 10^{-12}$ zu.Dabei wurde auch unser Prothesenmaterial Dacron getestet.(34)

Baier (1972) entwarf,zurückgreifend auf viele eigene Experimente-nicht nur an Thrombozyten-,eine grafische Darstellung der Beziehung zwischen der kritischen Oberflächenspannung eines Materials (γ_c) und der Bioadhäsion von Zellen,(32)



Dutton et al.(1968) und Frieman et al.(1970) und Petschek et al.(1968) konnten zeigen, daß die Unterschiede bei der initialen Plättchenadhäsion aufgrund der differentiellen Oberflächenspannung mit zunehmender Strömungszeit immer mehr verschwinden. Es entsteht, so die Autoren, in jedem Fall der gleich dicke Thrombozytenteppich, obwohl sich die Langzeitergebnisse bei Materialien mit unterschiedlichem μ erheblich voneinander unterscheiden. (35,36,37)

Wie bereits oben geschildert, wird die eigentliche Fremdkörperoberfläche mit Protein total abgedeckt. (6,7,8,9)

Nun wurde gemessen, daß auf Oberflächen mit hohem μ sich auch ein Proteinfilm mit hohem μ bildet, auf Oberflächen mit niedrigem μ eine entsprechende Schicht mit niedrigem μ . Außerdem beträgt das Verhältnis von denaturiertem zu intaktem Protein auf Oberflächen mit hohem μ weniger als 4/5, auf solchen mit niedrigem μ aber bis zu 1. (32)

Baier (1972) schloß daraus, daß niedriges μ die Adsorption von mehr zufällig konfiguriertem Protein bewirkt als dies bei hohem μ der Fall ist. Darin könnte der Schlüssel für die Informationsübertragung von der primären auf die sekundäre, proteinbeladene Oberfläche verborgen sein. (32)

b) Oberflächenladung

Schon 1927 kam Abramson auf die später experimentell bestätigte Idee, daß die Oberflächenladung ein wesentliches Moment ist für die Zellaggregation, Zelladhärenz, Zelldiapedesis in Entzündungsbereiche und für die Thrombogenese. (38,39)

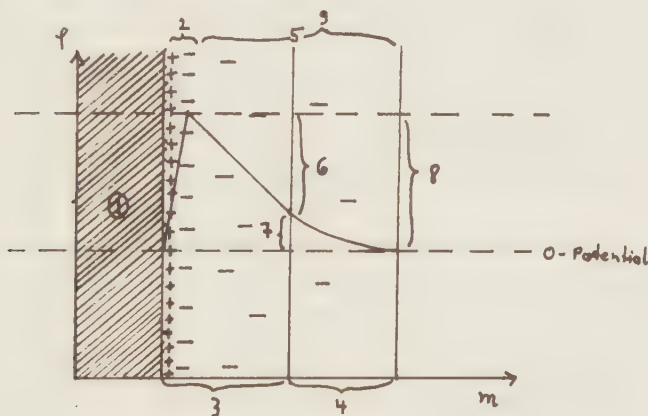
Eine Reihe von Untersuchern zeigten, daß bei der Blutelektrolyse die Anode thrombogen, die Kathode antithrombogen wirkt und interpretierten dies mit der Annahme einer inhibierenden Wirkung von negativ geladenen Fremdkörperoberflächen auf die Aktivierung des Faktors XII. (40,41,42)

Bei der Erforschung der Adhäsion von Thrombozyten an Fremdkörperoberflächen geht die Elektrochemie vom Konzept des Zeta-potentials aus, das an Elektrolyten erarbeitet wurde und somit auch für Blut gilt. (40)

Beim Festkörper-Elektrolyt-Kontakt kommt es zunächst zur Ad-

sorption von hydratisierten Ionen an die Festkörperoberfläche. Ursache hierfür ist die spezifische Oberflächenchemie. Dieser elektrochemisch gebundenen Ionenschicht gegenüber sammeln sich entgegengesetzt geladene, elektrisch gebundene Ionen an. Es entsteht eine elektrische Doppelschicht mit Dipolmoment, die zum Elektrolyten hin in eine Zone diffuser Raumladung übergeht. Die Dicke der elektrischen Doppelschicht ist konzentrationsabhängig und beträgt im Mittel etwa $4 \cdot 10^{-10}$ m. (38)

Trägt man das elektrische Potential in Abhängigkeit vom Wandabstand eines elektrolytdurchflossenen Kanals auf, so ergibt sich das folgende Schema:



Modifiziert nach (38)

- 1= Festkörper
 2= elektrische Doppelschicht mit Dipolmoment
 3= bei Strömung nicht mitbewegte Ladungsträger
 4= von der Strömung verschiebbare Ladungsträger
 5= hydrodynamische Gleitschicht
 6= Helmholtz-Potential
 7= Zetapotential
 8= totales Potential
 9= Zone diffuser Raumladung
 φ= Potential

S. 236

Das Zetapotential kann definiert werden als Potential an der hydrodynamischen Gleitschicht einer Zelle bzw. einer Oberfläche.(38,43)

Im Gegensatz zum totalen Oberflächenpotential ist das Zetapotential meßbar.Möglich ist dies über das sog. Strömungspotential.

Strömt ein Elektrolyt über eine Oberfläche,so entsteht eine Spannung längs der Flußrichtung,wobei die stromabwärts gelegene Elektrode positiv ist.(38)Das Zetapotential errechnet sich dann aus der Beziehung:

$$\eta = \frac{4 \cdot \pi \cdot M}{\epsilon} = \frac{4 \cdot \pi \cdot \eta \cdot V_s \cdot \sigma}{\epsilon \cdot p} \quad (40)$$

ϵ = Dielektrizitätskonstante des Elektrolyten

σ = Leitfähigkeit " "

p = Druckdifferenz zwischen zwei Meßpunkten P_1 und P_2 entlang der Strömung

M = Oberflächendipolmoment

V_s = Potentialdifferenz zwischen P_1 und P_2

Außerdem kann die elektrophoretische Mobilität eines geladenen Partikels zur Berechnung dienen:

$$\eta = \frac{4 \cdot \pi \cdot \eta \cdot U}{D} \quad (40)$$

U = elektrische Mobilität

D = Dielektrizitätskonstante des Elektrolyten

η = Viskosität " "

Schaudach(1970) betonte die Existenz eines Zetapotentials auch an Kunststoff-Blut-Phasengrenzen.(40)

Dawber und Roberts(1969) beschrieben die Abhängigkeit der Plättchenadhäsivität vom Zetapotential.(44)

Das Strömungspotential einer durch Sintermembranen fließenden Salzlösung, das heißt auch das Zetapotential, konnte von ihnen durch Zugabe verschiedener physiologischer Substanzen, zum Beispiel gesättigter Fettsäuren, verändert werden. Die dabei gemessene Reduktion oder Zunahme (bei gesättigten Fettsäuren Abnahme) des Zetapotentials korrelierte bei allen Versuchen

mit dem beobachteten Adhäsionsverhalten der Blutplättchen. Auch konnten sie die Thrombozytenadhäsivität an Glasoberflächen durch Anwärmen des Glases modifizieren. Genau parallel dazu verlief das Zetapotential der Phasengrenze Glas-Elektrolyt. (44)

Der Zusammenhang zwischen Zetapotential und Plättchenadhäsivität wurde ebenfalls durch Versuche von Gröttum (1971) bestätigt. (45)

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Wirkung von Substanzen auf die Thrombozytenadhäsivität mit einem gleichzeitigen Einfluß auf das Zetapotential sowohl der Thrombozyten als auch der Fremdkörperoberflächen erklärt werden kann. Bestimmte Substanzen ändern dabei die Zetapotential, indem sie sich den beiden genannten Oberflächen (Thrombozytenoberfläche und Fremdkörperoberfläche) auflagern. Auf diese Art und Weise kann die elektrische Abstoßungs- bzw. Anziehungskraft zwischen den beiden Antagonisten modifiziert werden. Die erhöhte Thrombozytenadhäsivität bei Vorhandensein von gesättigten Fettsäuren läßt sich so zwanglos begreifen.

Wie bereits demonstriert, bildet die Proteinschicht beim Kontakt Blut-Dacron die erste Bedeckung der Prothese. Diese Schicht und nicht Dacron bestimmt letztlich das Zetapotential der Prothesenoberfläche. (6, 7, 8, 9)

Ob sich zwei Partikel (bzw. Partikel und Oberfläche) einander nähern, kann mit Hilfe der DLVO-Theorie (Dérjaguin, Landau, Verwey, Overbeck) errechnet werden. (46, 43)

Eine Distanz von $5 \cdot 10^{-10}$ m (die nach der DLVO-Theorie für die Adhäsion unterschritten sein muß) kann erreicht werden, wenn die totale Interaktionsenergie V_T aufgebracht werden kann.

$$V_T = V_R + V_A$$

V_R = Energie zur Überwindung der elektrostatischen Abstoßung von zwei Oberflächen

V_A = frei werdende Van-der-Waals-Energie, entstanden durch Ladungsfluktuation

In V_R geht ψ_0 = totales Oberflächenpotential ein, das aber nur schätzungsweise aus dem Zetapotential abgeleitet werden kann.

c) Strömungsbedingungen

Es ist bekannt, daß Strömungsgrößen einen wesentlichen Anteil an der Aktivierung, Adhärenz und Thrombenformation von Blutplättchen haben.

Die Literaturübersicht soll einige Informationen bringen, die später für das Verständnis der Diskussion, welche sich mit der Wirkung der in unserem Modell vorliegenden Strömung beschäftigt, erforderlich sind.

Blut ist eine nicht-newtonsche Flüssigkeit, das heißt die Viskosität η (in Poise = $1 \text{ dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}$) ist von der Schubspannung τ (errechnet aus $\tau = \eta \cdot \frac{dv}{dx}$), dem punktuellen Geschwindigkeitsgefälle, abhängig. Bei steigender Strömungsgeschwindigkeit nimmt die Viskosität (Zähigkeit) des Blutes ab. Blut kann laminär strömen oder Wirbel bilden. Entscheidend dafür ist die Größe der Reynoldsschen Zahl R_e .

$$R_e = \frac{r \cdot \bar{v} \cdot \rho}{\eta}$$

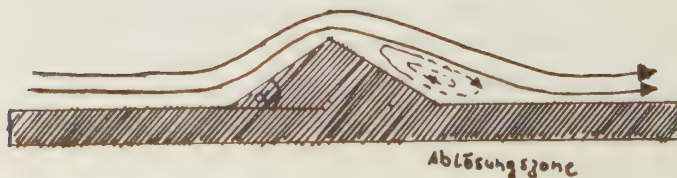
r = Rohrradius
 $\bar{v}$ = mittlere Strömungsgeschwindigkeit
 ρ = Dichte
 η = Viskosität

Bis zu R_e 1100-1200 hat man mit laminärer Strömung, darüber mit Turbulenz zu rechnen, die in Röhren zunächst an der Wand auftritt. Bei laminärer Strömung laufen alle Stromlinien parallel, bei Turbulenz sind sie spiralförmig oder schleifenförmig angeordnet. (47)

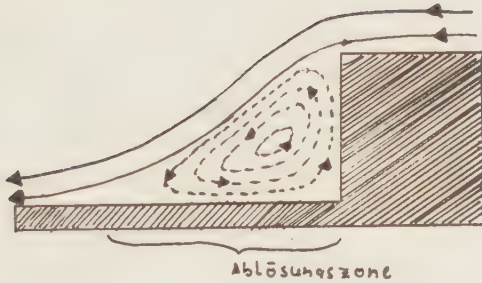
Oberflächenprofile beeinflussen das Strömungsverhalten einer Flüssigkeit, indem sie in bestimmten Fällen zur Grenzschichtablösung mit Wirbelbildung führen.

Für das Verstehen der Diskussion ist die Kenntnis von vier Profiltypen und deren Wirkung auf die Strömung notwendig.

e) Ziehharmonikaprofil



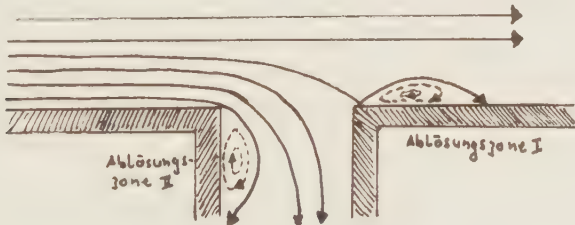
b) Stufe



Mod. nach
(48,49)

Je größer Re , desto länger ist die Ablösungszone mit Wirbelbildung. (49)

c) Pore bzw. Gefäßabgang



Mod. nach
(49,51)

Hier findet sich an zwei Stellen Strömungsablösung mit Wirbelbildung. (51)

d) kugeliger Widerstand



Mod. nach
(49,50)

Beim "Ziehharmonikaprofil" ist die Grenzschiebtablösung minimal, da das Profil relativ stromlinienförmig ist. Die umkehrenden Flüssigkeitsteilchen werden hier von den schnellen Teilchen der darüberliegenden Schichten mitgerissen. (47)

Bei zunehmendem α jedoch verstärkt sich die Wirbelbildung. (47)

Im Poiseuille-Fluß wurde das Verhalten von Thrombozyten experimentell und theoretisch ausgiebig bearbeitet. (52, 53, 54, 55, 56)

Yu and Goldsmith (1975) beobachteten in einer zellarmen Plasmlösung mit Poiseuille-Fluß zwei wichtige Bewegungsarten der Blutplättchen:

- Drehung um die eigene Achse
- Drift zur Röhrenachse, die bei Thrombozyten 40 mal größer als bei Erythrozyten ist

Dabei ähnelte das Verhalten der Plättchen bei Schubspannungen τ kleiner als 1 dyn/cm^2 dem von starren, scheibenartigen Modellpartikeln, bei höherem τ dem von suspendierten Ultropfen. (50)

Das von Yu and Goldsmith (1975) durchgetestete Modell wurde von Brenner and Bungay (1971) bereits theoretisch bearbeitet. Dabei ergaben sich Resultate, die mit den Experimenten in Einklang stehen. (50, 52)

Im Vollblut dagegen, so zeigten Experimente mit markierten Tracerzellen, durchlaufen die Zellen aufgrund von Wechselwirkungen völlig ungeordnete, theoretisch nicht faßbare Bahnen. (50)

Das Phänomen des "plasma skimming" zeigt sich im plättchenarmen und plättchenreichen Plasma, sowie im Vollblut. Aufgrund der axial treibenden Kräfte bildet sich eine randständige, zellfreie Zone aus, die bei normalem Hämatokrit ca. $2-6 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ dick ist. (57)

In den schleifenförmigen Ablösungszonen mit Wirbelbildung der vier Teilmodelle entstehen Bereiche, in denen die Thrombozyten spiralförmige Bahnen durchlaufen und so lange Zeit in einem umschriebenen Raum verbleiben. Goldsmith (1974) konnte im Modellversuch zeigen, daß sich ein Partikel im Wirbel innerhalb 4 Sekunden nur um $0,013 \text{ cm}$ axial weiterbewegt, während ein Teilchen im freien Strom bei einer Strömungsgeschwindigkeit von $3,1 \text{ cm/s}$ in der gleichen Zeit $12,4 \text{ cm}$ zurücklegt. (49)

In Zonen hoher Schubspannung werden Thrombozyten aktiviert und gehen in eine kugelige, adhäsions- und aggregationsbereite Reizform über. (1,56)

Nach Schmid-Schönbein und Schildkraut (1969) aggregieren Blutplättchen im thrombozytenreichen Plasma bei Schergraden von mehr als 230/sec. Dabei handelt es sich nur um einen Synergismus: hohe Schubspannung verstärkt nur die von Thrombin und Adrenalin ausgelöste "release-reaction" und die von Thrombin, Kollagen und Nukleotiden ausgelöste Aggregation. (49,56)

d) Kofaktoren der Adhäsion

Hierzu gehört in erster Linie der von Willebrand-Faktor (Tschopp et al.-1974, Weiss et al.-1975), aber auch noch bisher undefinierte Faktoren aus dem Bereich von Thromben, eventuell auch "release-factors". (11)

IV. Fibrinogenese, Fibrinolyse und Interferenz Fibrinogenese-Thrombozytenverhalten

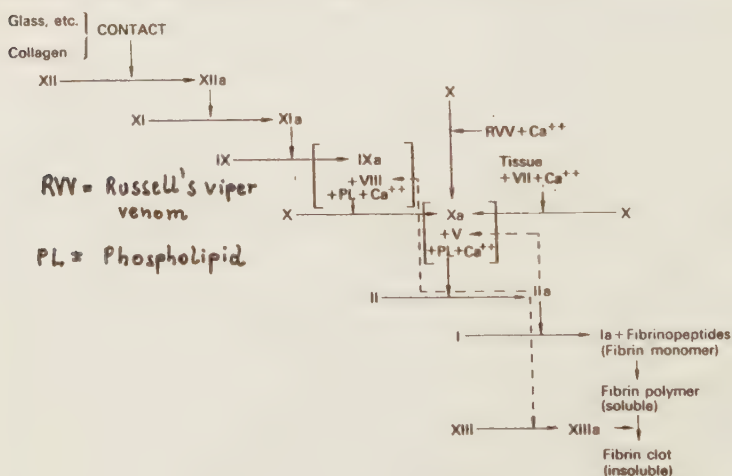
Bis ca. 1940 galt die Morawitzsche Theorie der Fibrinogenese:



(11)

Nach und nach wurden neue Gerinnungsfaktoren entdeckt und 1964 stellten Davie und Ratnoff(1964) und Macfarlane(1964) unabhängig voneinander das Konzept der Gerinnungskaskade auf. Die Seegersche Theorie (60) findet als Alternative heute kaum noch Berücksichtigung.

Jetzt gilt das folgende Schema, in dem die neuesten Forschungsergebnisse verarbeitet sind:



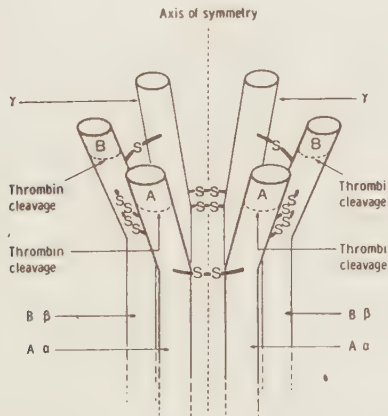
Aus (11) S.226

Die Gerinnungsfaktoren I-XIII sind-biochemisch gesehen-Glycoproteine.(11)

Man unterscheidet ein "extrinsic system" und ein "intrinsic system". Erstere Kaskade wird durch Kontakt der Gerinnungs-

faktoren mit Gewebe ausgelöst und führt schnell zur Fibrinogenese. Letztere Kaskade wird durch Kontakt von Faktor XIII (Hagemannfaktor) mit Glas und anderen organischen und anorganischen Oberflächen initiiert und bewirkt langsamer die Entstehung von Fibrin. Beide Enzymketten münden in einen gemeinsamen Weg, sobald der aktivierte Faktor X (Stuart-Prower-Faktor) entstanden ist.

Calcium und die beiden Gerinnungsfaktoren X und V sind an eine Phospholipidmizelle adsorbiert und bilden einen Komplex, der Prothrombin(II) zu Thrombin(IIa) aktiviert. (11,62) Fibrinogen ist ein Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 340000 und einer dimeren Struktur aus jeweils drei Polypeptidketten, die über Disulfidbrücken verknüpft sind. (11,63,64)



Aus (11) S. 227

Thrombin, eine Protease, spaltet vier Arginyl-Glycyl Bindungen am N-terminalen Ende von Fibrinogen ab. Das heißt, von den Aα Ketten werden zwei Fibrinopeptide A, von den Bβ Ketten zwei Fibrinopeptide B frei, G bleibt ungespalten. Das übrige Di-

mer polymerisiert nun entsprechend seinen elektrochemischen Eigenschaften. Faktor XIIIa bewirkt eine Stabilisierung des Polymerisates, indem er die Quervernetzung induziert. (11,65)

Vor Einwirken von Faktor XIIIa geschieht die Polymerisation durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken, und zwar als End-zu-End- oder als Seit-zu-Seit-Verknüpfung. Diese Fibrinmonomer-Aggregate sind jedoch nicht beständig und können von Substanzen, die Wasserstoffbrücken trennen (z.B. Harnstoff), wieder aufgelöst werden.

Erst unter Einfluß von Faktor XIIIa, dem sogenannten fibrinstabilisierenden Faktor, polymerisieren die Fibrinmonomere über echte kovalente Bindungen. Dabei verbindet sich die ϵ -Aminogruppe von Lysin mit dem Glutamylrest des Partners. B β Ketten vernetzen nicht.

Fibrin in der endgültigen Form ist entstanden. (11,98)

In die Fibrinogenese sind vier wichtige Rückkoppelungen eingebaut:

- | | |
|--|------|
| <ul style="list-style-type: none">-die Inaktivierung von Faktor V und VII durch Thrombin in höherer Konzentration-zelluläre Klärungsmechanismen-Plasminaktivierungsfaktoren: Anti Xa und Anti XIa-Fibrinolyse und Hemmung der Gerinnungskaskade durch Spaltprodukte | (11) |
|--|------|

Im Gefäßsystem entsteht permanent Fibrin, das aber laufend durch das sogenannte "fibrinolytische System" abgebaut wird, so daß ein Fließgleichgewicht zustande kommt: Aufbau und Abbau halten sich die Waage.

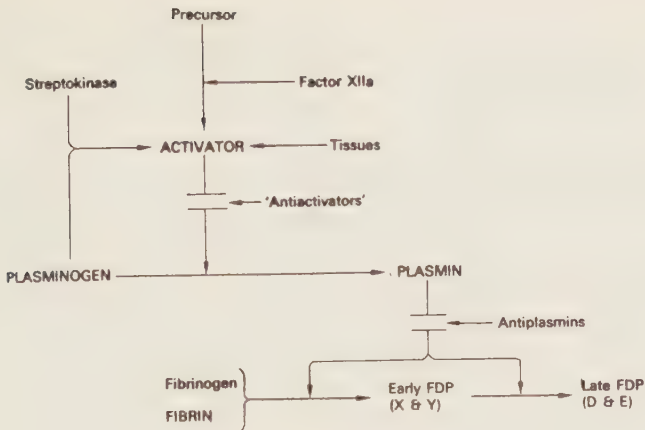


FIGURE 6.8. The fibrinolytic system.

Aus (11) S.255

Das proteolytische Enzym der Fibrinolyse ist Plasmin, das im normalen Plasma von Antiplasmin neutralisiert wird. Es entsteht aus Plasminogen, einem Glycoprotein, dessen Arginyl-Valyl-Brücke vom Plasminogenaktivator gespalten wird und das so zu einem zweikettigen Molekül, verbunden über eine einzige Disulfidbrücke, umgewandelt wird. (66,67)

Plasminogenaktivatoren finden sich in den meisten Geweben, im Endothel und im Blut (hier als "precursor"). (68,69)

Bekannte Aktivatoren, allerdings in vivo physiologischerweise irrelevant, sind Urokinase sowie die bakteriellen Exotoxine Streptokinase und Staphylokinase. (11,99)

Im Rahmen der viskösen Metamorphose der Blutplättchen kommt es zur Interferenz zwischen Thrombozytenverhalten und Fibrinogenese. Während der "release-reaction" werden Plättchenfaktoren frei, die für die Entstehung von Fibrin, insbesondere im "intrinsic system", wichtig sind (besonders $PF\ 3, Ca^{++}$). (11,27,28,99)

Umgekehrt entsteht bei der Gerinnung Thrombin, das die visköse Metamorphose der Plättchen auslöst.

Das folgende Schema stellt diese Verflechtung zusammen:

V. Einbau von Gefäßprothesen in den Wirtsorganismus
(Licht- und elektronenmikroskopische Befunde an
implantierten Prothesen)

De Bakey et al.(1964) untersuchten vergleichend den Organisationsprozess von implantierten Gefäßprothesen an Mensch,Hund und Schwein.(70)

Nach der primären Abdichtung durch Fibrin dringt Bindegewebe- so die Autoren-von außen in die poröse Kunststoffprothese ein und es kommt zu Organisation der Fibrinschicht.Innerhalb von 7 Tagen,noch bevor das Fibrinnetz organisiert ist,entwickelt sich beim Schwein-beim Hund und beim Menschen erst nach 3-4 Wochen - ein Neoendothel.(70)

Weitere Befunde von De Bakey et al.(1964) seien tabellarisch zusammengestellt:

- | | |
|------------|---|
| a)Schwein; | -äußerst schnelle Heilung und Endothelialisierung
-schon junge Tiere sind für die Versuche verwendbar
-ständige,kontinuierliche Dickenzunahme des inneren Prothesenbelages nach Endothelialisierung
-innere Wand besteht zunächst aus Fibroblasten,Fibrin,Kollagen und Entzündungszellen |
| b)Hund: | -Auftreten von glatter Muskulatur
-langsame Heilung und Endothelialisierung
-langsame und geringe Verkalkung
-keine progrediente Dickenzunahme der inneren Schicht |
| c)Mensch: | -Organisationsprozess mit dem des Hundes vergleichbar |

(70)

Die eingebaute Prothese zeigt beim Menschen und beim Hund, im Gegensatz zum Schwein, keine geschlossene Endothelschicht. Was die Kapillarisierung betrifft, so sind in allen Fällen die äußeren Schichten gut kapillarisiert. Auch in der inneren Schicht fanden die Autoren immer Kapillaren. Die Prothesenporen penetrierende Gefäße können nur beim Hund nachgewiesen werden. (70)

De Bakey et al. (1964) vertreten die Ansicht, daß die Zellen, die die innere Oberfläche einer implantierten Gefäßprothese aus Kunststoff bilden, aus drei Quellen stammen:

- strömendes Blut
- umgebendes Gewebe (von eindringenden Gefäßen mitgeschleppt)
- Nahtbereich (einwachsend)

Paschold (1966) erarbeitete wesentliche Informationen über die Vaskularisierung von Kunststoffgefäßprothesen. Demnach ist die neugebildete Wand bezüglich der Gefäßstruktur nur ein Regenerat, das heißt es ergeben sich prinzipielle Abweichungen vom normalen Gefäßmuster. Im Hundeversuch zeigen neugebildete, nutritive Vasa vasorum eine erhebliche Irregularität. (71)

Paschold (1966) rekonstruierte den Organisationsmechanismus mit Hilfe histologischer Schnitte. Seine Befunde stammen aus Hundeversuchen und bieten folgendes Bild:

-Sekunden nach der Implantation :	Blutkoagula auf der inneren Prothesenoberfläche und in den Maschen
-6.Tag :	im Fibrin auch Leukozyten und Histiozyten; kein Gefäßanschluß der Neomedia bzw. Neoadventitia
-5.Woche :	innere Fibrinschicht von Fibrozyten bedeckt; Formierung der Neomedia bzw. Neoadventitia noch nicht abgeschlossen
-60.Tag :	deutliches Neoendothel; Neointima und Neoadventitia ausgebildet
-5.Monat :	sinusoides Netz in den Kunststoffmaschen; die Kapillaren sind bis in die subintimale Zone verfolgbar und verlaufen hier ringförmig; Neointima und subintimale Schicht wie bei normalen Arterien gefäßfrei

Die neugebildete Intima kann hyalin degenerieren, verkalken und spätobliterieren, ganz wie normale Gefäße. (71)

De Bakey et al. (1964) beschrieben 67 Dacronprothesen von 58 Patienten mit Implantationszeiten von 2 Wochen bis 7 Jahren. (72)

Makroskopisch findet sich bei derartigen Prothesen eine innere Schicht (Dicke ca. 1-3 mm), die fest an die Dacronfasern angeheftet ist. Das Implantat ist in dichtes, faseriges Bindegewebe eingebettet, die Innenschicht (Neointima) glatt und durchsichtig. Mikroskopisch, so De Bakey et al. (1964), lassen sich im Querschnitt drei Schichten unterscheiden:

- innere Zellschicht (=Neointima)
- mittlere Faserschicht im Bereich der Dacronmaschen (=Neomedia)
- äußere Zellschicht (=Neoadventitia)

Die innere Zellschicht besteht aus zwei Schichten:

- dünne, faserige Bindegewebsschicht (liegt der Prothese an); ihre Fasern durchdringen die Prothese bis zur Adventitia; einige Kapillaren
- Kontaktzone mit Blut: im wesentlichen Fibrin; manchmal Leukozyten, Monozyten und Fibroblasten; Endothel vorhanden, jedoch nicht geschlossen

Die äußere Schicht stellt sich folgendermaßen dar:

- Fasern durchdringen die Dacronprothese; viele Kapillaren, von denen einige in die Prothese eindringen; eine vollständige Durchdringung der Prothesenwand ist nicht nachweisbar

(72)

Stampfl (1959) beschrieb eine 1/2 Jahre alte, zum Teil obliterierte, menschliche Dacronprothese. Er unterschied dabei eine Außen-, Mittel- und Innenschicht:

- Außenschicht: normale Adventitia mit evtl. vermehrter Vaskularisation; Schicht aus Fremdkörperriesenzellen

- Mittelschicht: homogene, körpereigene Substanz; Kollagen; perforierende Gefäße; Kollagenbüschel
- Innenschicht: Fibrinbelag (nicht immer zu erkennen), durchsetzt mit Gefäßen und Kollagenbüscheln; Bindegewebe mit zirkulären kollagenen Fasern und verfetteten Fibrozyten; staubartiger Fettniederschlag entlang der Fasern; Neoendothel

(73)

Kulenkampff und Simonis (1976) fanden um die Dacronprothese herum Fremdkörperriesenzellen, Riesen Zellgranulome und Makrophagen mit inkorporierten Partikeln. Sie nahmen an, daß dies Ausdruck eines enzymatischen Abbaus des Prothesenmaterials sei. Auch Sperling (1976) postulierte einen derartigen Aggressionsprozess. (75,74)

Wesolowski (1962) stellte eine Degeneration der neugebildeten subintimalen Schicht fest, die mit Ödematisierung, Lipoidablagerung, Spaltbildung, Dissektion und Bildung von wandständigen Thromben einherging. (76)

Petry und Heberer (1957) beobachteten bei Hunden schon sehr früh eine fleckenweise Besiedelung des Fibringerüstes mit Histiozyten und Mastzellen. Nach 2 Wochen, so die Autoren, breiten sich Fibrozyten unter dem Einfluß des Blutstromes aus und bilden ein Neoendothel, das ab der 3. Woche lückenlos geschlossen ist und die erforderlichen Zellen aus den tieferliegenden Fibrozyten rekrutiert. Unter dem Endothel findet sich eine feine Gitterfaser-membran, in der subendothelialen Zone liegen Fibrozyten in multiplen Formen und - besonders auffällig - synzytiale Strukturen, die an primitive Muskelfasern erinnern, sowie elastische Fasern. (77)

All die geschilderten Befunde wurden licht- und elektronenmikroskopisch gewonnen.

Aus rasterelektronenmikroskopischer Sicht zeigt die Neointima von Prothesen aus lyophilisierter, menschlicher Dura, implantiert in Gefäße von Bastardhunden, buckelartige, runde Erhebungen mit

einem Durchmesser von maximal $12-18 \cdot 10^{-6} \text{ m}$, die regellos angeordnet sind. Maurer et al. (1973), von denen diese Arbeit stammt, sahen darin ein Äquivalent der Endothelkerne. (78)

Bild 1 (aus Maurer et al. (1973))

"Neugebildetes Endothel im Prothesenbereich. Die buckelartigen Erhebungen entsprechen den Grenzen der Endothelzellkerne, welche etwa zwischen 12 und 18 μm lang sind. (Die Größenschwankungen in natürlichen menschlichen Blutgefäßen beträgt etwa 14 bis 16 μm). Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. Vergrößerung 2050:1." (78)

Zu beachten sind auch die von den Autoren nicht beschriebenen fädigen und granulären Auflagerungen.

Menschliche Endothelzellen in intakten Gefäßen zeigen eine mehr ovale bis spindelige Form mit typischer axialer Ausrichtung. Die Schwankungsbreite bezüglich der Größe ist bei humanen Endothelkernen weitaus kleiner ($14-16 \cdot 10^{-6} \text{ m}$) als beim Neoendothel der Hunde (78)

Bei intaktem Endothel von männlichen Kaninchen beschrieben Hess und Frost (1969) in Längsrichtung orientierte, teils ovale, teils spindelförmige Erhabenheiten mit einer Länge von $16 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ und einer Breite von $2,5-5 \cdot 10^{-6} \text{ m}$. Nie fanden sich adhärente Blutzellen oder Fibrin. Vereinzelt sahen sie geschwänzte Endothelien, das heißt zum Teil aus dem Verband herausgelöste Zellen, die Auflagerungen mit einem maximalen Durchmesser von $0,3 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ trugen. Diese Granula fanden Hess und Frost (1969) auch auf nicht abgelösten Endothelzellen. (4)

Reumuth und Becker (1968) bestätigten mit Aufnahmen von Aortenwänden Neugeborener die Beobachtungen von Hess und Frost (1969) daß die intakte Intima eine axiale Ausrichtung ihrer Strukturen besitzt. (79)

Ob eine implantierte Prothese schnell oder langsam einheilt, ob sie degeneriert oder nicht, hängt unter anderem von folgenden Faktoren ab:

- 1) Der Grad der Gewebereaktion ist bestimmt durch die Dicke und Organisationszeit der Neointima. Die Benetzbarkeit ist dabei direkt proportional der Gewebereaktion. (80)
- 2) Silikonisierung (= Herabsetzung der Benetzbarkeit) verzögert die Einheilung und verhindert die Entwicklung einer adherenten Intima, steigert aber die Rate von späterer Thrombosierung und kann eine unerwünschte Fremdkörperreaktion auslösen. (80)
- 3) Degeneration und Porosität der Prothese hängen zusammen. Als Indikator dient die Verkalkungsrate. Mit zunehmender Porosität nimmt die Degeneration ab. Ab einer Porosität von rund 10 000 tritt nach der sog. "Wesolowski-These" keine Degeneration mehr auf. (81)

Diese These blieb nicht unwidersprochen. (82)

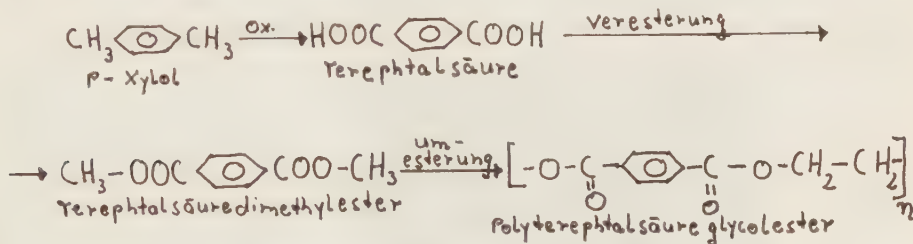
- 4) Je größer die Poren sind, desto schneller wird die Prothese organisiert. (83)

C. Material und Methode

I. Der Kunststoff Dacron als Prothesenmaterial

1. Chemie und Physik

Die Prothese besteht aus Dacron, einer modernen Polyesterfaser mit der chemischen Struktur des Polyäthylenglycolterephthalates. Dieses leitet sich ab aus der Grundsubstanz Polyterephthalsäureglycolester, dessen Syntheseweg kurz dargestellt wird:



Von Polyterephthalsäureglycolester ausgehend werden viele Produkte unserer Textilindustrie, z.B. Terylen, Trevira, Diolen, Dacron etc. aufgebaut. Primär werden hierbei Granulate erzeugt, die geschmolzen und dann durch Spinnndüsen ausgestoßen werden - dabei entsteht die Polyesterfaser. (84)

Hervorstechende Eigenschaften der Polyesterfasern, die 1941 von Winfield und Dickson entdeckt wurden und seit 1945 technisch hergestellt werden, sind:

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> -Dichte ca. 1,38 g/cm³ -Erweichungsbereich über 225°C -Schmelzpunkt 255°C -Feuchtaufnahme 0,4-0,8% -gut chemikalienbeständig -gute Form- und Knitterbeständigkeit -nicht toxisch -geringe Fremdkörperreaktion |
|---|

2. Verarbeitung zur Prothese

Bei unseren Versuchen verwendeten wir den Prothesentyp "Cooley-Graft" mit den Durchmessern 4mm und 6 mm der Firma Braun-Dexon. Die Gefäßprothesen wurden nach der "lock-stitch-Technik" hergestellt, bei der Kettenfäden miteinander verflochten werden. Vorteile gegenüber den rundgestrickten und kreuzgewebten Modellen sind:

- Reduktion der Porenzahl
- gleichmäßige Porengröße
- kein Ausfransen an den Rändern

Im Schema stellt sich der Fadenverlauf folgendermaßen dar:



Aus (86)

Bild 2b (siehe separater Bildteil) zeigt die Prothesenoberfläche aus rasterelektronenmikroskopischer Sicht.

Wichtige Daten der Gefäßprothese "Cooley-Graft" sind:

- Garnstärke: 70 den
- Porosität: $2800 \text{ [ml H}_2\text{O/cm}^2 \cdot \text{min. 120mm Hg]}$
oder $600-700 \text{ [ml ungerinnbares Blut/cm}^2 \cdot \text{min. 120mm Hg]}$
- Wandstärke: ca. 0,3 mm
- Porenweite: ca. $50-200 \cdot 10^{-6} \text{ m}$
- Fadenstärke eines Einzelfilamentes: ca. $14 \cdot 10^{-6} \text{ m}$
- Prothesenlänge: 60 cm (kann aber nach Bedarf zugeschnitten werden)
- Profil: ziehharmonikaartig

Eine Fotografie der beiden Prothesentypen (Durchmesser 4mm und 6mm) findet sich im Bildteil (Bild 2a).

3. Bedeutung in der Medizin

1542 unternahm Andreas Vesalius den ersten Versuch Gefäße zu überbrücken. Dabei setzte er einem Tier Strohhalme anstelle der Femoralarterie ein. Dies war der Auftakt zur tierexperimentellen Erprobung folgender Materialien:

- | | |
|---|-----------------------------|
| <ul style="list-style-type: none">- autogene Arterie und Vene- gefäßfremde, körpereigene Gewebe- allogene Gefäße (artspezifisch aber körperfremd)- xenogene Gefäße (artfremd aber biologisch)- Kunststoffe und andere Fremdstoffe (z.B. Silber) | } autogen (gleicher Körper) |
|---|-----------------------------|

Durchgesetzt haben sich für den klinischen Gebrauch in erster Linie die autogene Vene und die Kunststoffe, unter denen Dacron und Teflon am geeignetsten sind. (75)

Die Geschichte der Fremdstoffe begann um 1920. Der Durchbruch gelang erst in den fünfziger Jahren mit der Verwendung der Polyesterfasern. Vorher verwendetes Silber, Gummi, Elfenbein und Glas erwiesen sich als total unbrauchbar. (77, 75, 74)

II. Das Miniaturschwein als Versuchstier

In der Universitäts-Foliklinik München hat sich das Hanford-Miniaturschwein bei der Untersuchung unterschiedlicher Problemstellungen bewährt. Die für diese Arbeit verwendeten Tiere waren auch in andere Versuchsprogramme (Modelle zur Arterioskleroseforschung) integriert, die parallel zu diesen Versuchen liefen.

Entstanden ist das Miniaturschwein 1958 in den Hanford Laboratorien, USA. Ausgangstiere waren zwei Palouse-Jungsauen und ein Pitman-Moore-Eber. Nach einer weiteren Kreuzung mit einem hellhäutigen Sumpfschwein aus Louisiana war das Miniaturschwein geboren. 1966, nach 7 Jahren Selektion, wurden die ersten Exemplare nach Deutschland geliefert.

Das Miniaturschwein ist in vielen Aspekten dem Menschen vergleichbar. Selbst die Menschenaffen weisen nur in mancher Hin-

sicht eine größere Ähnlichkeit mit dem Menschen auf)

- Stoffwechsel
- Anatomie von Herz, Verdauungswegen, Gefäßen, Zähnen etc.
- Physiologie vieler Organe
- Neigung zu Arteriosklerose und Magengeschwüren
- Blutbild

Vorteile des Miniaturschweines sind besonders:

- relativ geringes Körpergewicht (dem Menschen entsprechend)
- relativ geringer Platz- und Futterbedarf
- große Robustheit

(89)

Marshall et al. (1972) gaben Normalwerte an, die sich auf kastrierte, männliche und weibliche, zum Teil mehrere Male operierte Schweine mit einem Durchschnittsgewicht von 40 kg bezogen. In Klammern zum Vergleich menschliche Normwerte (gleiche Einheiten)

Hämatokrit	34,1 Vol%	(40-54 ♂, 37-47 ♀)
Hämoglobin	60,4 % ①	(14-18 g% ♂, 12-16 g% ♀)
Erythrozyten	4,52 Mill/mm ³	(4,5-6,0 ♂, 4,1-5,4 ♀)
Leukozyten	15187/mm ³	(4000-9000)
Thrombozyten	234700/mm ³	(200 000-300 000)
Fibrinogen	456 mg/100 ml	(200-400)
Quickwert	100%	(75-125%) (88,90)

Insbesondere speziellere Gerinnungsparameter, die für die Frage der Vergleichbarkeit des menschlichen und tierischen (hier Miniaturschwein) Gerinnungsprozesses wichtig wären, konnten nicht gefunden werden.

1967 wurde das Miniaturschwein erstmals in der Poliklinik verwendet. Wir bezogen die Tiere vom Institut für Tierhygiene der Universität München.

Die Haltung der Tiere erfolgte in Boxen von 0,9 x 1,77 m Grundfläche. Gefüttert wurden sie mit Schweinemastfutter.

① des Normalwertes beim Menschen

III. Funktion und Vorteile des Rasterelektronenmikroskopes

Die Bilder in dieser Arbeit wurden mit dem Rasterelektronenmikroskop Typ "Stereoscan Mark II" aufgenommen.

Das Prinzip des "Scanning" geht zurück auf Arbeiten von Max Knoll(1935) und Max von Ardenne(1938). Es handelt sich um ein Aufstrahlungsmikroskop, das eine weitaus größere Tiefenerfassung als das klassische Durchstrahlungselektronenmikroskop (im niedrigsten Vergrößerungsbereich ca. 9mm) bietet. Auch das Objektfeld ist bei "Stereoscan" mit 25mm^2 maximal sehr viel größer, als das beim klassischen Elektronenmikroskop ($80 \cdot 10^{-6}\text{mm}^2$).

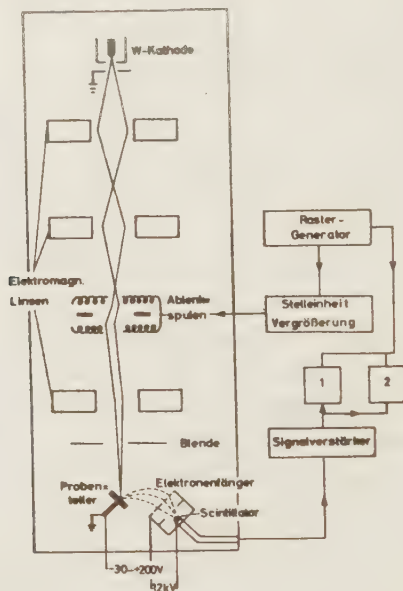
(79)

Die hohe Plastizität der Oberflächendarstellung und die Möglichkeit große Flächen zu untersuchen machen dieses Gerät für unsere Arbeit unabkömmlich und in vieler Hinsicht geeigneter als das klassische Elektronenmikroskop. (79)

Die Vergrößerung kann stufenweise eingestellt werden (von 20:1 bis 20 000:1). Die mit Gold (auch Kohle und Gold) bedampfte Oberfläche der Prothese wird von einem auf $100-200 \cdot 10^{-10}\text{m}$ Durchmesser fokussierten Elektronenstrahl Zeile für Zeile abgetastet. Dabei werden jeweils quadratische Flächenabschnitte sukzessiv erfaßt und in je 1000 Zeilen zerlegt. Die absorbierten und reflektierten Elektronen spielen für die Information keine Rolle; entscheidend sind vielmehr die energieärmeren Sekundärelektronen, die in der aufgedampften Schicht entstehen. Je spitzer der Winkel, mit dem der Primärstrahl die Oberfläche trifft, desto größer die Zahl der ausgelösten Sekundärelektronen. Dadurch kann das Relief der zu untersuchenden Oberfläche abgebildet werden, denn Hebungen und Senkungen der Oberfläche bewirken einen veränderten Einfallswinkel. Der Einfallswinkel zur Untersuchungsebene ist dagegen konstant 45° . Selbstverständlich spielt auch die Qualität des Bedampfungsmaterials, in unserem Falle Gold, für die Ausbeute an Sekundärelektronen eine Rolle. (92, 79)

Die Sekundärelektronen werden nun auf der Strecke Probenteller-Fängergitter (Potentialdifferenz (-30 bis 200V) und Gitterszintillator (Potentialdifferenz 12KV) beschleunigt. Der Szintillator, in dem die Information nochmal verstärkt wird, steuert die Helligkeit einer Kathodenstrahlröhre, die Zeile für Zeile das

Bild aufbaut, welches auf einem Schirm sichtbar wird oder fotografisch festgehalten wird. (79,92)



Aus (92)

S.1100

Das Schema veranschaulicht die Arbeitsweise des Rasterelektronenmikroskops. Dabei bedeutet:

- gestrichelte Linien: Sekundärelektronen
- ausgezogene Linien: Primärelektronen

Die mit Pfeilen versehenen Linien geben die Richtung der Signale vom Objekt zu den Bildröhren (1 und 2) bzw. vom Rastergenerator zu den Ablenkspulen und synchron zu den Bildröhren an.

IV. Aufarbeitung der Prothese

Vor der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung unterwarfen wir die Prothese folgender Präparation:

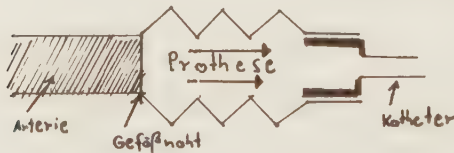
1. 30 Minuten Liegen in Glutaraldehydlösung bei 4°C, gepuffert auf PH 7,2
2. 2*je 30 Minuten Liegen in 30% Alkohol
3. 12-17 Stunden Liegen in 70% Alkohol

Alle Operationen führten wir unter streng aseptischen Kautelen, wie in der Humanmedizin üblich, durch.

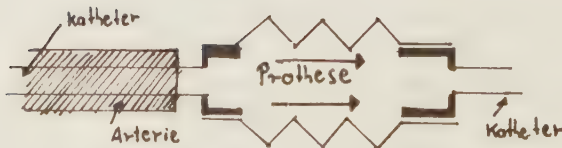
Die A. carotis interna und die V. jugularis interna wurden ausgehend von einem Längsschnitt medial des M. sternocleidomastoideus und kaudal des Kehlkopfes freipräpariert. Beide Gefäße liegen eng zusammen und bilden mit dem N. vagus einen Gefäßnervenstrang. In gleicher Höhe, nur oberflächlicher und lateral des M. sternocleidomastoideus, erreichten wir die V. jugularis externa. Der Zugang zur Bauchaorta führte über die Bauchhöhle.

Der Anschluß des Katheters an das venöse System erfolgte nach kranialer Unterbindung der Vene. Das nun proximal kollabierte Gefäß wurde inzidiert, durch diesen Schlitz der vorne abgeschrägte Katheter herzwärts vorgeschoben und mit einigen Fadenschlingen perivenös fixiert. Die Arterie wurde an zwei Stellen mit Bulldogklemmen abgeklemmt, das interponierte Gefäßstück entnommen und für andere Versuchsprogramme untersucht. Das freie, herznahe Ende nähten wir mit einer speziellen Gefäßnaht an die Prothese an oder führten einen Katheter ein, den wir ebenfalls mit periveskulären Fadenschlingen befestigten.

Für die Prothese ergab sich damit folgende Situation:



bzw.



Nun wurde der Blutfluß für gleichbleibende Intervalle, z.B. 10 Sekunden, intermittierend freigegeben. Nach jeder Strömungszeit wurde ein Stück Prothese abgesetzt. Dabei schnitten wir gegen die Flußrichtung und erhielten Fragmente mit zunehmender Kontaktzeit Oberfläche-Blutstrom.

Im gleichen Versuchsaufbau führten wir auch Messungen der verlorenen Blutmenge durch, wobei natürlich die Prothesenlänge konstant blieb.

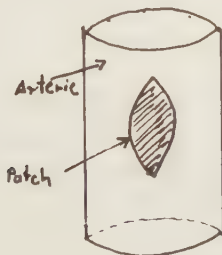
2. Prothesenimplantation

Die Dacron-Gefäßprothesen wurden nicht "preclottet". Der operative Zugang zu den entsprechenden Gefäßgebieten erfolgte wie schon oben beschrieben und die Prothesen wurden End-zu-End und End-zu-Seit mit der in der Gefäßchirurgie üblichen Nahttechnik an die Arterien angeschlossen. (91)

Wir implantierten die Dacron-Gefäßprothesen immer unter leichtem Zug, eine Knickung vermieden wir.

3. Patchaufnähtung

Der Flicken wurde mit fortlaufender Naht, wie üblich, auf die Arterie aufgenäht, nachdem in die Gefäßwand ein längsovale Loch geschnitten worden war.



D. Tabellarische Übersicht über alle durchgeführten Versuche

21.3.74

Schwein 88-♂-64,5Kg

- A: An die A.carotis int. li. wird eine Prothese(ø6mm) End-zu-End genäht.Das freie Ende ist über einen Schlauch an eine Spritze angeschlossen ,Blut wird 3 Min. lang angesaugt und in den Vorhofskatheter reinjeziert.Danach Entnahme von A.carotis int. und Prothese.
- B: Reichlicher Blutverlust,der aber noch leicht wegzutupfen ist.

22.5.74

Schwein 98-♀-52 Kg

- A: Zunächst End-zu-End-Anastomose von Prothese und A.carotis int..Abfluß des Blutes über ein Schlauchsystem in die V.jug.int..Es kommt rasch(ca. 1 Min) zum völligen Verschuß am Nahtbereich.Nach 10 Min. wird das Prothesenstück entnommen und ein Shunt (Katheter in der A.carotis int. —→Prothese—→ V.jug.int.)hergestellt.Nun Freigabe der Strömung in definierten Zeitintervallen(0,5 Min.,1 Min., 2 Min.,3 Min.).

31.5.74

Schwein 98-♀-52Kg

- A: Seit-zu End-Anastomose einer Prothese(ø6mm) und der A.abdominalis.Abfluß über einen Katheter in der V.Jug.ext..Durchströmungszeit ca. 1 Min..
- B: Während des Versuches löst sich das Verbindungsstück zum Vorhofskatheter,sodaß die Prothese in einem Blutsee liegt.Großer Blutverlust.

A=Ablauf des Versuches

B=Bemerkung

Z=Zusatzmedikation

5.7.74

Schwein 97-Q-60 Kg

- A: Implantation einer Prothese($\emptyset$ 4mm) in die A. carotis int. li. über zwei End-zu-Seit-Anastomosen. Nahtmaterial Urafil^R, Abdichtung mit Histacryl^R.
- B: Es kommt zu einer längeren und stärkeren Blutung aus den beiden Anastomosebereichen, weshalb eine zusätzliche Abdichtung mit Histacryl^R erfolgt.
- Z: 7ml Protamin 1000 i.v. post operationem.

17.7.74

Schwein 97-Q-60Kg

- A: Implantation einer Prothese($\emptyset$ 4mm) in die re. A. carotis int. über zwei End-zu-End-Anastomosen. Nahtmaterial Mirafil^R, Abdichtung mit Histacryl^R.
- B: Auch hier starke und lange Blutung aus den Anastomosebereichen.

31.7.74

Schwein 97-Q-60 Kg

- A: Entnahme der Prothese vom 17.7.74.
- B: Beim Eröffnen des Operationsgebietes ergießt sich Eiter, der im wesentlichen auf die oberen Schichten beschränkt ist. Die Prothese ist fest in Narbengewebe eingewachsen, die Präparation stößt auf Schwierigkeiten. Bei der Durchtrennung der sehr festen Bindegewebskapsel ergeben sich starke kapilläre Blutungen.
- Nach Entnahme des Implantates wird dieses aufgeschnitten. Das Narbengewebe hat das Lumen total zugeschnürt, die Prothese ist zur Entnahmezeit sicher nicht durchgängig. Ein ca. 1 mm dicker blauschwarzer Film, der sich stellenweise von der Wand abrollt, kleidet das Lumen aus. Die Prothese ist zwar zusammengeschnürt aber nicht zuthrombosiert.

21. 8.74

Schwein 97-♀-60Kg

A: Entnahme der Prothese li. vom 5.7.74.

B: Die Prothese ist von einem festen,weißen Pfropf (Thrombus) total verschlossen.Kein Lumen mehr sichtbar.

24.9.74

Schwein 94-♀-89 Kg

A: Implantation einer Prothese(Ø 4mm) in die A.carotis li..Beide Anastomosen End-zu-End.

B: Am Operationsbeginn Gabe von 10 000E Liquemin^R i.v.

am 25.9.: 5 ml Ferrlecit^R
10 g Anabactyl^R
10 000E Liquemin^R i.v.
20 000E Liquemin^R s.c.

am 27.9. wie am 25.9.

am 28.9. 15 000E Liquemin^R s.c.

am 29.9. 5 ml Ferrlecit^R
Binotal^R
10 000E Liq.^R i.v.
10 000E Liq.^R s.c.

1.10.74

Schwein 94-♀-89 Kg

A: Entnahme der Prothese li. vom 24.9.74.

B: Das Implantat ist wieder zuthrombosiert.Man sieht einen dunkelroten Pfropf im Lumen.

4.10.74

Schwein 94-♀-89 Kg

A: Implantation einer Prothese(Ø 4mm)in die A.ca-rotis int. re..Beide Anastomosen End-zu-End.

B: Gute Spontanabdichtung.Nur ein kleiner Fleck muß mit Histacryl^R abgedichtet werden.

Z: am 7.10. 10 000E Liquemin^R i.v. und 20 000E Liq.^R s.c.

am 7.10. wie am 7.10.

am 9.10. 3 Tabl. Marcumar^R + 20.000 E Liq.i.v.

am 10.10-13.10. je 3 Tabl. Marcumar^R

14. 10.74

Schwein 94-♀-89 Kg

- A: Entnahme der Prothese re. vom 4.10.74.
B: Die Prothese ist wieder zuthrombosiert, diesmal zusätzlich von Narbengewebe eingeschnürt. Bei der Präparation kommt es zu einer starken Wundblutung.

19.11.74

Schwein 102-♀-32,5 Kg

- A: Prothese im extrakorporalen Shunt zwischen zwei Kathetern. Zufluß über die A. carotis int. re., Abfluß über die V. jug. int. re.. Prothese: $\varnothing$ 4mm, Länge 2 cm-auf 4 cm ausgezogen. Vor Versuchsbeginn Injektion von 50 000 E Liquemin als Bolus i.v.. Thrombinzeit vorher 113 Sek., nach 7 Min. Kreislaufzeit > 5 Min.. Jetzt Freigeben des Blutstromes und Messung der Abdichtungszeit (keine Dichtung bis 8 Min. 50 Sek.) und des Blutverlustes (ca. 630 ml).
Nun Einbringen einer längeren Prothese in den obigen Shunt und Freigeben der Strömung. Schrittweises Abschneiden kleiner Stücke vom venösen Prothesenteil nach: 24 Sek., 1 Min., 1,5 Min., 2 Min., 6 Min..
B: Das Tier verstirbt während des Versuches.

20.12.74

Schwein 107-♀-29 Kg

- A: Prothese ($\varnothing$ 4mm, Länge 1,5 cm-auf 3 cm ausgezogen) im extrakorporalen Shunt zwischen 2 Kathetern. Zufluß über die A. carotis int., Abfluß über die V. jug. int.. Bestimmung der Abdichtungsdauer (3 Min. 20 Sek.) und des Blutverlustes (297 ml).
B: Versehentlich kommt es zu einem kurzfristigen Bluteinstrom in die Prothese vor Versuchsbeginn mit "preclotting"-Effekt.

31.1.75

Schwein 108-♀-31,7 Kg

- A: Prothese im extrakorp. Shunt zwischen 2 Kathetern. (A. carot. int. $\rightarrow$ V. Jug. int., $\varnothing$ 4mm, Länge 1,5 cm-auf 3 cm ausgezogen) Vor dem Versuch Gabe von 50 000 E Liq.^R als Bolus i.v., nach 7 Minuten Verteilungszeit Freigabe der Strömung. Thrombinzeit vor Versuch 59 Sek., nach 7 Min. > 5 Min..

Blutverlust ca. 1,5 l, Versuchsdauer 8 Min.. Bis dahin keine Abdichtung erzielbar, Tier jedoch verendet.

21.3.75

Schwein 115-♂-42 Kg

- A: Versuchsanordnung wie im Vorversuch. Diesmal jedoch kein Liqueminbolus. Prothese: $\varnothing$ 4 mm, Länge 1 cm- ausgezogen auf 2 cm.
- B: Blutverlust 444 ml, nach 5 Min. kommt es zur völligen Abdichtung.

15.4.75

Schwein 115-♂-42 Kg

- A: Ein "patch" aus Cooley-Graft wird auf die A. subclavia mit Mirafil[®] fortlaufend aufgenäht. Geringer "preclotting"-Effekt.
- B: Der Blutverlust bis zur endgültigen Abdichtung ist minimal.

29.4.75

Schwein 115-♂-42 Kg

- A: Entnahme des "patch" vom 15.4.75 mit einem proximalen und distalen Arteriensegment.
- B: Das Lumen ist offen und die Prothesenwand von einem grauen, glänzenden, glatten Belag bedeckt.

22.5.75

Schwein 112-♂-70 Kg

- A: Prothese im extrakorporalen Shunt (A. carotis int. $\rightarrow$ V. jug. int.). Vor Versuchsbeginn langsame Injektion von 20 000 E Liquemin[®] i.v., während des Freipräparierens Infusion von weiteren 20 000 E Liq.. Dann Freigabe des Blutstromes und Messung des Blutverlustes (1,7 l) und der Dichtungszeit (keine Abdichtung bis zum Ende des Versuches nach 27 Min.).
- B: Tier verblutet. Während des Versuches wird der arterielle Blutdruck mit einem in der li. A. subclavia liegenden "Statham"-Element gemessen.

E. Ergebnisse

I. Befunde an Dacronprothesen im blutdurchströmten, extra-korporalen Shunt

1. Bildmaterial

Bild 3

Versuch am 21.3.74. Vergrößerung $2200:1.1\text{mm}^{\wedge}0,45 \cdot 10^{-6}$ m.
Strömungszeit 3 Min..

Man sieht drei eng aneinanderliegende Dacronfilamente, das linke mit einem mittleren Durchmesser von ca. $20 \cdot 10^{-6}$ m. Am linken Bildrand befindet sich ein sehr weiter Prothesenspalt (=Pore).

Ein weitmaschiges Netz aus Fäden von max. $0,4 \cdot 10^{-6}$ m Durchmesser und membranartigen Verspannungen an deren Kreuzungsstellen ($\rightarrow 1$) vom mittleren Radius $2,3 \cdot 10^{-6}$ m überzieht zweidimensional die Dacronfilamente und die Spalten. Darin eingebaut sind einzelne Thrombozyten ($\rightarrow 2$) und Thrombozytenaggregate, jeweils mit Pseudopodien. Links am Bildrand finden sich innerhalb eines Radius von $13 \cdot 10^{-6}$ m keine Blutplättchen.

Es handelt sich hier um ein gemischtes Fibrin-Pseudopodiennetz, wobei die einzelnen Bestandteile nicht immer sicher zu differenzieren sind. Im thrombozytenfreien Bereich liegt sicher ein reines Fibrinnetz vor.

*($\rightarrow 3$)

Bild 4

Versuch am 21.3.74. Vergrößerung $5500:1.1\text{mm}^{\wedge}0,182 \cdot 10^{-6}$ m.
Strömungszeit 3 Min..

Es zeigt sich ein großmaschiges, dreidimensionales Netz aus Fäden mit einer max. Dicke von $0,4 \cdot 10^{-6}$ m ($\rightarrow 1$). Darin eingebettet sind Erythrozyten in Napf- und Kugelform, sowie Thrombozyten mit ihren Pseudopodien. Die Blutplättchen liegen einzeln ($\rightarrow 2$) oder als Aggregate ($\rightarrow 3$) vor.

Auch hier sind die Pseudopodien nicht sicher von Fibrinfäden abzugrenzen. Teilweise handelt es sich um ein reines Fibrinnetz (wenn keine Thrombozyten in der Nähe), teilweise um ein gemischtes Pseudopodien-Fibrin-Netz.

Bild 5

Versuch am 21.3.74. Vergrößerung 2200:1, $1\text{mm} = 0,45 \cdot 10^{-6}\text{m}$.

Strömungszeit 3 Min..

Im oberen Bildbereich relativ glatte Oberfläche mit multiplen Buckeln ($\varnothing$ ca. $1,8 \cdot 10^{-6}\text{m}$) ($\rightarrow 1$), die im Bildzentrum lochartig einbricht. Dort sieht man zelluläre Einzelelemente ($\rightarrow 2$), die über Fortsätze miteinander verbunden sind und deren Durchmesser mit dem der Buckel identisch ist.

Hier liegt sicher ein dichter, flächiger Teppich von miteinander verschmolzenen Thrombozyten vor. In der Bildmitte ist die visköse Metamorphose noch nicht abgeschlossen, sodaß einzelne Blutplättchen mit ihren Pseudopodien abgrenzbar geblieben sind. Am unteren Bildrand beobachtet man ein dichtes, fädiges Netz aus Fibrin oder Pseudopodien/Fibrin, das wohl durchgehend unter dem Thrombozytentepich liegt und nur hier an die Oberfläche tritt.

Bild 6

Versuch am 21.3.74. Vergrößerung 5750:1, $1\text{mm} = 0,173 \cdot 10^{-6}\text{m}$

Strömungszeit 3 Min..

Gleiche Oberfläche wie in Bild 5 - nur stärkere Vergrößerung. Deutlich sind jetzt die Einzelelemente mit einem Durchmesser von ca. $2 \cdot 10^{-6}\text{m}$, bei denen es sich sicher um Thrombozyten handelt, und deren fädige Verkettung über Pseudopodien sichtbar. Zum Teil sind die Thrombozyten auch vollkommen nahtlos miteinander verschmolzen. Fibrin ist nicht nachweisbar.

Bild 7

Versuch am 22.5.74. Vergrößerung 5500:1, $1\text{mm} = 0,18 \cdot 10^{-6}\text{m}$.

Strömungszeit 1/2 Min..

Links ($\rightarrow 1$) ein Aggregat aus mehreren Thrombozyten, das sich ganz flach auf der Prothese ausbreitet. Der Radius dieses Komplexes beträgt max. $11 \cdot 10^{-6}\text{m}$ (wenn man die ganz dünnen, fädigen Elemente mit Kontinuität zum Aggregat nicht berücksichtigt) ($\rightarrow 2$).

Man kann bei den fädigen Strukturen zwei Typen unterscheiden:

Typ I : Relativ dicke Ausläufer der Thrombozytenaggregate, die stumpf($\rightarrow 3$) oder keulenförmig($\rightarrow 4$) enden. Es handelt sich dabei sicher um Pseudopodien.

Typ II: Im Vergleich dazu dünne Fäden($\rightarrow 2$), die in ihrer gesamten Ausbreitung nicht verfolgbar sind. Stellenweise scheinen sie die Pseudopodien zu überkreuzen($\rightarrow 5$). Hierbei handelt es sich entweder um einen besonders dünnen Pseudopodientyp oder -viel wahrscheinlicher - um Fibrin.

Rechts($\rightarrow 6$) sieht man einen einzelnen Thrombozyten in "Spiegelform", dessen Pseudopodien mit denen des benachbarten Aggregats Kontakt haben.

Bild 8

Versuch am 22.5.74. Vergrößerung 4500:1. Strömungszeit $1/2$ Min.. $1\text{mm} \hat{=} 0,22 \cdot 10^{-6}\text{m}$.

Ein massiver Thrombozytenkomplex überbrückt den Filamentspalt. Die Breite der Brücke beträgt ca. $10,2 \cdot 10^{-6}\text{m}$. Meist ist die visköse Metamorphose bis zur völligen Verschmelzung der Blutplättchen fortgeschritten, zum Teil sind aber auch Einzelstrukturen - z.B. knopfartig der Prothesenoberfläche aufsitzende Thrombozyten($\rightarrow 2$) und "Spiegelformen"($\rightarrow 3$) - zu erkennen. Der Komplex besitzt Pseudopodien, die den Spalt überziehen($\rightarrow 4$). Die Existenz von Fibrin ist nicht sicher auszuschließen($\rightarrow 5$). Im wesentlichen bestehen die fädigen Strukturen wohl aus Pseudopodien.

Bild 9

Versuch am 22.5.74. Vergrößerung 5000:1. $1\text{mm} \hat{=} 0,2 \cdot 10^{-6}\text{m}$. Strömungszeit $1/2$ Min..

Auf dem rechten Dacronfilament befindet sich ein Thrombozyt in der sogenannten "Spiegelform"($\rightarrow 1$), der mit seinen Pseudopodien, sofern sie sicher als solche zu identifizieren sind, einen Radius von $11 \cdot 10^{-6}\text{m}$ ausfüllt und in der rechten oberen Ecke($\rightarrow 2$) Anschluß an einen weiteren, ausgebreiteten Thrombozyten bekommt.

Neben den eindeutig als Pseudopodien identifizierbaren fädigen Strukturen vom Typ I (Klassifizierungskriterien: relativ große Dicke, unregelmäßiges Kaliber, keulen- oder stumpfartiges Ende, übersehbarer Verlauf, Verbindung zum Thrombozytenkörper) sieht man einen zweiten Typ von Fäden (Typ II). Diese sind dünner als die Pseudopodien, sind aufgrund ihrer größeren Länge optisch nicht vollständig zu verfolgen und überkreuzen die Pseudopodien ($\rightarrow 3$). Stellenweise bilden sie sogar die direkte Fortsetzung der Pseudopodienenden ($\rightarrow 7$). Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei diesen Strukturen, deren Kaliber nur stufenweise durch Bündelung wächst, um Fibrin. Theoretisch möglich - aber äußerst unwahrscheinlich - sind die Fäden vom Typ II besonders dünne Pseudopodien (wie z.B. in Bild 11).

Die Brücken über den Filamentspalt werden von den Fäden Typ II (wohl Fibrin) gebildet ($\rightarrow 4, \rightarrow 5$), die zu dicken Strängen und membranartigen Flächen konfluieren. Fäden vom Typ I (Pseudopodien) beteiligen sich nicht an der Überbrückung.

Die kugligen Strukturen ($\rightarrow 6$) sind höchstwahrscheinlich Kokken (Durchmesser ca. $1 \cdot 10^{-6}$ m).

Bild 10

Versuch am 22.5.74. Vergrößerung 1800:1. Strömungszeit 2 Min. $1 \text{ mm} \approx 0,55 \cdot 10^{-6}$ m.

Man sieht einen tiefen Spalt in der Prothese, dessen Wände aus Decronfilamenten bestehen. Neben Thrombozyten in den verschiedensten Stufen der Viskösen Metamorphose (mit Bildung von Verkettungen über Pseudopodien) und Fibrinnetzen finden sich andere nicht immer identifizierbare Zellen:

1. Stachelige Zellen mit einem Durchmesser von ca. $3,85 \cdot 10^{-6}$ m (sicher Erythrozyten in der osmotisch bedingten

Stechapfelform)(→1)

2. Napfförmige Zellen mit einem Durchmesser von ca.

$4,95 \cdot 10^{-6}$ m (sicher Erythrozyten)(→2)

3. Kugelige Zellen mit einem Durchmesser von $3,85 \cdot 10^{-6}$ m, deren Oberflächen kleine Kügelchen aufgelagert sind (→4) (Leukozyten, höchstwahrscheinlich B-Lymphozyten)

4. Ovale Zellen mit einem Längsdurchmesser von $5,5 \cdot 10^{-6}$ m und samtartiger Oberfläche (→3) (Leukozyten, höchstwahrscheinlich Monozyten)

Bild 11

Versuch am 22.5.74. Vergrößerung 4750:1. Strömungszeit 3 Min. $1 \text{ mm} \hat{=} 0,21 \cdot 10^{-6}$ m.

Das Bild zeigt, daß Strukturen, die den Fäden vom Typ II (→12) ähneln einen Filamentspalt überbrücken können. Ob es sich hierbei um besonders dünne, atypische Pseudopodien oder um am Thrombozyten ansetzendes Fibrin handelt, ist nicht sicher zu sagen.

Die adhärennten Blutplättchen sitzen der Oberfläche wie Knöpfe auf, was dafür spricht, daß sie noch in einem sehr frühen Stadium der Viskösen Metamorphose sind und soeben erst adhären geworden sind.

Bild 12

Versuch am 22.5.74. Vergrößerung 5000:1. Strömungszeit 3 Min. $1 \text{ mm} \hat{=} 0,2 \cdot 10^{-6}$ m.

Ungefähr 30 Thrombozyten bilden über ihre Pseudopodien eine Kette, die über den Prothesenspalt zieht. Die Plättchen befinden sich in allen Stadien der Viskösen Metamorphose ("Knopfformen" und "Spiegeleiformen"). Aggregatbildung bis zur völligen Verschmelzung der Einzel-elemente findet sich nur rechts im Bild.

Fibrin in der Brücke kann nicht ganz ausgeschlossen werden, auf den Decronfilamenten jedoch finden sich nur Thrombozytenpseudopodien.

2. Zusammenfassende Beschreibung

Hier werden die acht wichtigsten morphologischen Grundstrukturen des primären Prothesenbelages, wie sie sich aus den Bildern 3-12 herausarbeiten lassen, zusammengestellt.

Fäden vom Typ I interpretieren wir sicher als Pseudopodien, solche vom Typ II mit Vorbehalt als Fibrin.

1. Fibrinbrücken spannen sich nahezu parallel über den Spalt zwischen zwei Dacronfilamenten (Bild 9+11).
2. Pseudopodien überbrücken den Filamentspalt (Bild 8).
3. Auf der Prothesenoberfläche bilden sich Netze aus Fibrin und Pseudopodien (nicht differenzierbar). Diese können zwei- oder dreidimensional sein (Bild 3-5+10).
4. Fibrinfäden bilden an ihren Überkreuzungspunkten Membranen (Bild 3+7). Eine Beteiligung von Pseudopodien ist nahezu ausgeschlossen. Beim Belassen einer Prothese im Blutsee (entspricht dem "preclotting") zeigt sich ganz massive Membranbildung.
5. Im Maschenwerk des Netzwerkes aus Fibrinfäden und Pseudopodien befinden sich gefangene Zellen (Erythrozyten, Leukozyten), die so passiv am Abdichtungsprozeß beteiligt sind (Bild 4+5).
6. Thrombozytenaggregate fließen wie zäher Brei über die Filamentspalten hinweg und bilden breite Brücken (Bild 8). Man findet Bereiche mit totaler Verschmelzung der Einzelelemente und solche mit nur partieller.
7. Ketten aus Thrombozyten, die sich über Pseudopodien zusammenkoppeln, ziehen über den Filamentspalt. Fibrin als Grundgerüst ist durchaus möglich (Bild 12).
8. Über einem dichten Netz aus Fibrin und Pseudopodien bildet sich eine Auflage aus vollständig miteinander verschmolzenen Thrombozyten im Endstadium der Viskösen Metamorphose, die einen fast nahtlosen Teppich darstellen (Bild 5+6).

Ausgeprägte, dichte Fibrinnetze treten nach ca. 3 Minuten Durchströmungszeit auf. Bereits nach 30 Sekunden aber finden sich erste Spuren von Fibrin (Fäden vom Typ II), schon mit Konfluenz der Einzelfäden und beginnender Membranbildung (Bild 9).

Kommt die Prothese beim Annähen mit Blut in Kontakt, so überwiegen Fibrinstrukturen zu jedem Zeitpunkt, bei Durchströmung im Shunt zeigt sich zumindest zu Beginn eine Retention der thrombozytären Strukturen, obwohl es auch hier in der Regel später zum Dominieren des Fibrins kommt.

Den geschlossenen Thrombozytent Teppich sehen wir nur in einem Versuch. Hierbei kommt es zu einem versehentlichen "preclotting" (Bild 5 und 6).

Alle von 1-8 genannten Prozesse verkleinern die Fläche zwischen den Dacronfäden, die für die Blutung zur Verfügung steht.

Es ist bemerkenswert, daß sich zur gleichen Zeit beim gleichen Versuch die Prothesenoberfläche an verschiedenen Stellen optisch höchst different darstellt. Auch Befunde an Prothesen von verschiedenen Versuchen mit gleichen Durchströmungszeiten weichen erheblich voneinander ab. Eine Stadieneinteilung des Abdichtungsprozesses aufgrund morphologischer Kriterien ist wegen dieser großen Variabilität äußerst schwierig. Deshalb beschränkt sich diese Arbeit mit der Darstellung der Grundstrukturen 1-8.

Pseudopodien und Fibrin sind mit der rasterelektronenmikroskopischen Methode oft nicht sicher zu unterscheiden, sodaß die obige Übersicht zum Teil nur hypothetischen Charakter besitzen kann.

II Befunde an implantierten Dacronprothesen

1. Bildmaterial

Bild 13

Versuch am 29.4.75("patch").Vergrößerung 2300:1.Implantationszeit 14 Tage. $1\text{mm} \hat{=} 0,43 \cdot 10^{-6}\text{m}$.

Lederähnliche Oberfläche-im unteren Bildbereich kaum sichtbare fädige Auflagerungen und Buckelbildung.Der Hügeldurchmesser beträgt ca. $9-10 \cdot 10^{-6}\text{m}$.

Auflagerungen von Thrombozyten in "Spiegeleiform" sind in der rechten unteren Bildecke nicht sicher auszuschießen($\rightarrow$ 1).Links deutlich erkennbare Erythrozyten in Stechapfelform,die sich zu einem Verband formieren. Ansonsten scheint die Oberfläche von Auflagerungen frei zu sein.

Es handelt sich hier um ein typisches Neoendothel,dessen Zellkerne sich gegen das Prothesenlumen vorwölben.

Bild 14

Versuch am 29.4.75("patch").Vergrößerung 1000:1. $1\text{mm} \hat{=} 10^{-6}\text{m}$ Implantationsdauer 14 Tage .

Hügelige Oberfläche(Buckeldurchmesser $10-14 \cdot 10^{-6}\text{m}$)mit stellenweise sichtbaren feingranulären($\rightarrow$ 1)und fäcigen($\rightarrow$ 2)Auflagerungen.

Ausgebreitete Thrombozyten könnten die fädigen Strukturen erklären,die Identität der feinen Granula bleibt unklar.Von größeren Partikeln ist die Oberfläche frei.

Das Bild zeigt eine Neointima,die sich von der normalen Gefäßintima nur durch das Fehlen der Längsausrichtung und der Spindelgestalt ihrer Kerne unterscheidet.Die Buckel entsprechen sich in das Lumen vorwölben-den Endothelkernen.

Bild 15

Versuch am 29.4.75("patch").Vergrößerung 5500:1. $1\text{mm} \hat{=} 0,18 \cdot 10^{-6}\text{m}$.Implantationszeit 14 Tage.

Einzelner Hügel(Durchmesser $10 \cdot 10^{-6}\text{m}$)aus der Voraufnahme herausvergrößert.

Man sieht einen nahezu geschlossenen Beleg aus Thrombo-

zyten(in allen Stadien der Viskösen Metamorphose),die Aggregate bilden und sich über Pseudopodien(Fäden vom Typ I-z.B. bei $\rightarrow 2$)verbinden.Relativ selten beobachtet man Fäden vom Typ II($\rightarrow 1$),welche höchstwahrscheinlich Fibrin entsprechen.

Die fädigen Strukturen in Bild 13 und 14 lassen sich damit als Pseudopodien bzw. Fibrin,letzteres allerdings in geringerem Maße,interpretieren.

Bild 16

Versuch am 31.7.74(Prothese).Vergrößerung $2000:1.1\text{mm}^{\wedge}0,5 \cdot 10^{-6}\text{m}$.Implantationszeit 14 Tage,

Viele Thrombozyten in allen Stadien der Viskösen Metamorphose verketteten sich über ihre Pseudopodien.In dem so entstehenden Netzwerk ist sicher massiv Fibrin vorhanden,worauf die ausgeprägte Membranbildung($\rightarrow 1$)hinweist.

Man glaubt hier einen zweistöckigen Aufbau zu erkennen, bei dem ein Maschenwerk aus Fibrin(evtl. mit integrierten Thrombozyten)einen membranösen Sockel bildet, auf den sich das Netz aus Thrombozyten+Pseudopodien+Fibrin auflagert.

Von einer Neointima kann hier keinesfalls gesprochen werden,es handelt sich allenfalls um eine noch nicht organisierte Vorstufe.

Bild 17

Versuch am 31.7.74.Vergrößerung $1800:1.1\text{mm}^{\wedge}0,36 \cdot 10^{-6}\text{m}$.
Implantationszeit 14 Tage.

Oberfläche mit sanfter Buckelung(zum Teil hier Längsorientierung und Spindelform der Hügel).

Am oberen Bildrand li. sieht man 3 große Auflagerungen ($\rightarrow 1$,Durchmesser $2-10 \cdot 10^{-6}\text{m}$),bei denen es sich höchstwahrscheinlich um Thrombozytenaggregate handelt.Eine sichere Identifikation ist jedoch nicht möglich. Links davon ein Thrombozyt mit Pseudopodien($\rightarrow 2$).Des weiteren findet man viele kleine und große kugelige

Auflagerungen unklarer Art(→3), sowie ein sehr feines Fadenwerk, das entweder von Pseudopodien(→5) oder von Fibrin(→4) gebildet wird.

Eine typische Neointima liegt hier nicht vor, obwohl sich bereits ein Neendothel gebildet hat. Vielleicht liegt hier eine Vorstufe vor.

2. Zusammenfassende Beschreibung

Insgesamt wurden bei drei Versuchstieren vier Gefäßprothesen und ein "patch" implantiert. Folgende Übersicht faßt die Ergebnisse zusammen:

Prothese I-IV + "patch"	Entnahme- tag	Implanta- tionszeit	Tier	Ergebnis
I	1.10.74	8 Tage	94, ♀, 80Kg	zuthrombosiert
II	14.10.74	10 Tage	94, ♀, 89Kg	zuthrombosiert und bindegewebig konstringiert
III*	31.7.74	14 Tage	97, ♀, 60Kg	nicht zuthrombosiert, aber bindegewebig konstringiert
IV	21.8.74	47 Tage	97, ♀, 60Kg	zuthrombosiert
"patch"	29.4.75	14 Tage	115, ♂, 42Kg	nicht zuthrombosiert und nicht wesentlich bindegewebig konstringiert.

* für rasterelektromikroskopische Untersuchung verwendet

Unsere Aussagen beziehen sich nur auf eine Implantationszeit von 14 Tagen, da von 5 Prothesen 3 vollständig zuthrombosierten. Das makroskopische Bild ist dem Versuchsprotokoll auf Seite 50-54 zu entnehmen.

Zu diesem Zeitpunkt existieren, betrachtet man die gesamten Bilder von Prothese II und des "patch", drei unterschiedliche raster-elektronenmikroskopische Oberflächentypen:

Typ I (Bild 13-15): fertiges Neoendothel

- Kerngröße ca. $9-14 \cdot 10^{-6} \text{ m}$
- Kernform rund, keine axiale oder sonstige Ausrichtung, sondern wahllose Anordnung
- Auflagerungen auf dem Endothel:
 1. Thrombozyten mit Pseudopodien
 2. Fibrin
 3. kleine, unbekannte Granula
 4. Erythrozyten
- zum Teil völlig freie Oberfläche

Typ II (Bild 16): nicht organisiertes Fibrin-pseudopodiennetz
siehe Bild 14

Typ III (Bild 17): untypisches Neoendothel
siehe Bild 17

Die Typen II und III können als Vorstufen des fertigen Neoendothels aufgefaßt werden.

Die Verteilung auf die Prothese III und den "patch" sieht so aus (alle Bilder ausgewertet - auch nicht abgebildete)

"patch": Typ I, Typ II

Prothese II: Typ II, Typ III

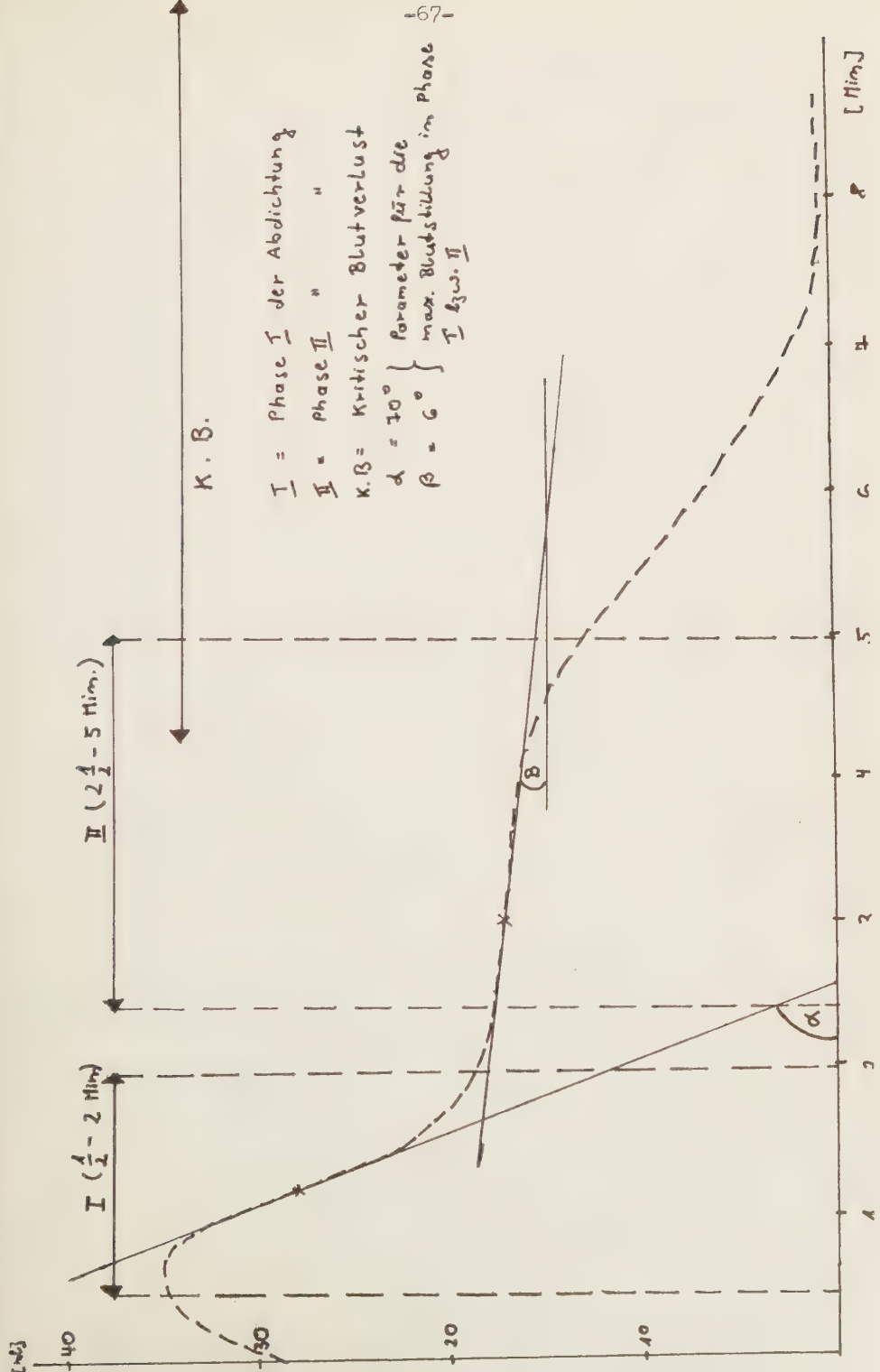
Eine vollständige Endothelialisierung wird nach 14 Tagen in keinem der Versuche erreicht, obwohl beim "patch" die Endotheldecke fast vollständig geschlossen ist.

III Ergebnisse der quantitativen Untersuchung des Blutverlustes aus Dacronprothesen im extrakorporalen, blutdurchströmten Schunt

1. Diagramme und Übersicht

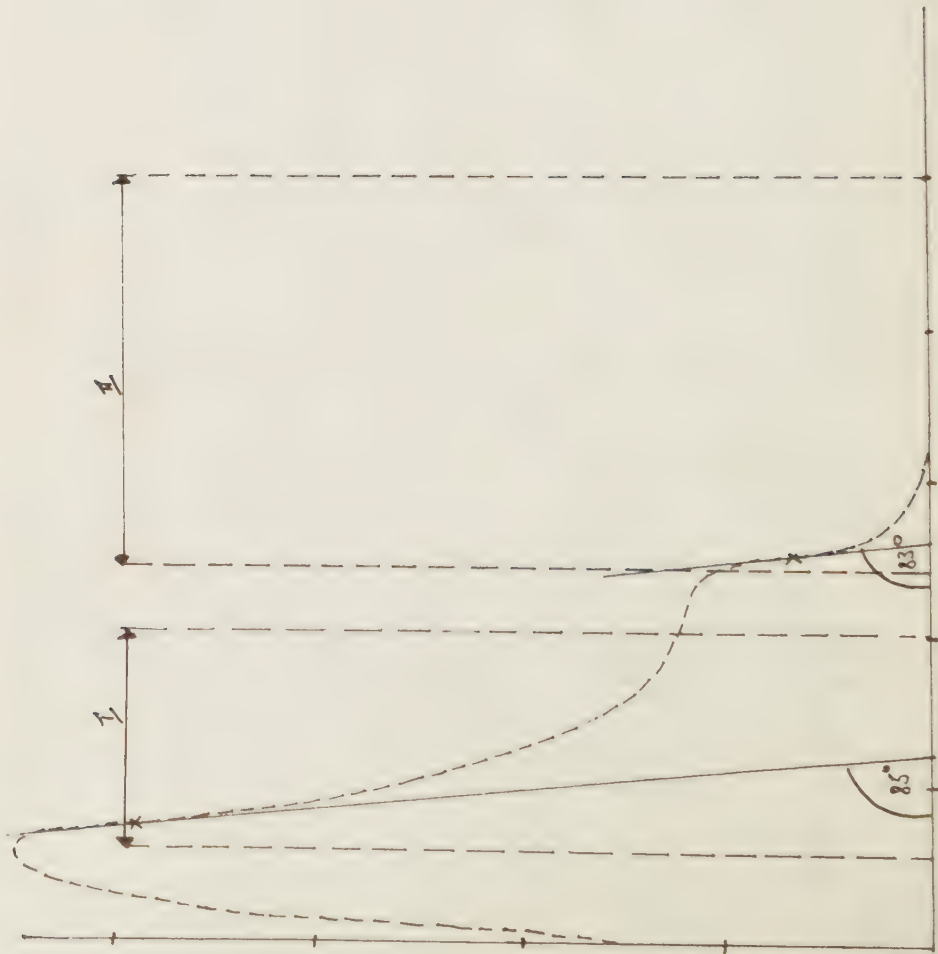
Die folgende Tabelle faßt die Ergebnisse der 5 Versuche zusammen:

Versuchs- datum	Heparin- dosis	Blutver- lust(ml)	Dichtungs- zeit	Versuchszeit	Prothesen- länge(cm)
19.11.74	50 000E	670	keine Dicht- ung bis Versuchs- ende	8Min.50Sek.	2 → 4
20.12.74	Ø	300	3Min.20Sek.	3Min.20Sek.	1,5 → 3
31.1.75	50 000E	1,500	keine Dicht- ung bis Ver- suchsende	8Min.50Sek.	1,5 → 3
21.3.75	Ø	450	5Min.	5Min.	1 → 2
22.5.75	20 000E	17000	keine Dicht- ung bis Ver- suchsende	27Min.	2 → 4,3



20.12.74
Ø Heparin

$$\alpha = 85^\circ$$
$$\beta = 83^\circ$$



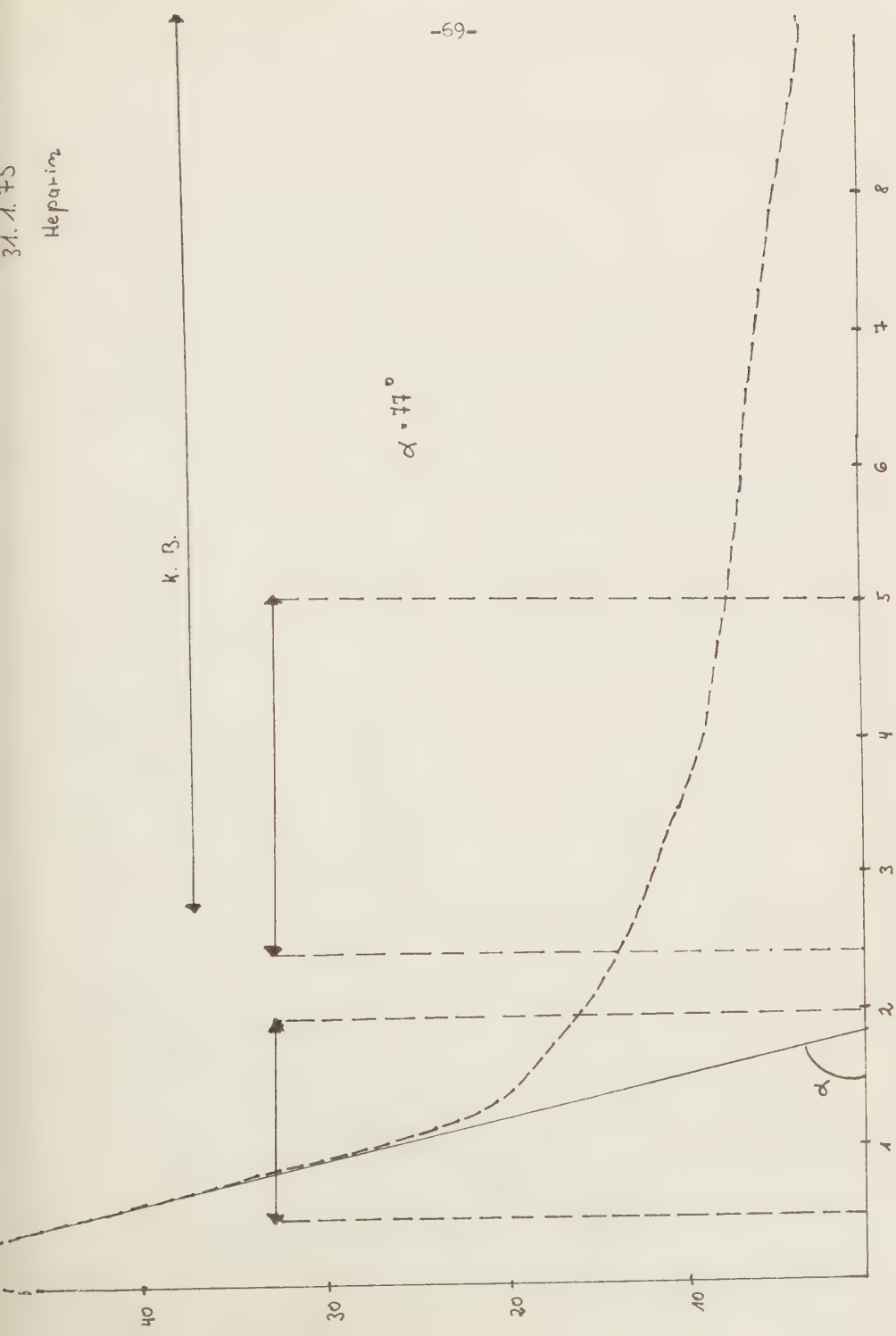
31.1.75

Heparin₂

k. B.

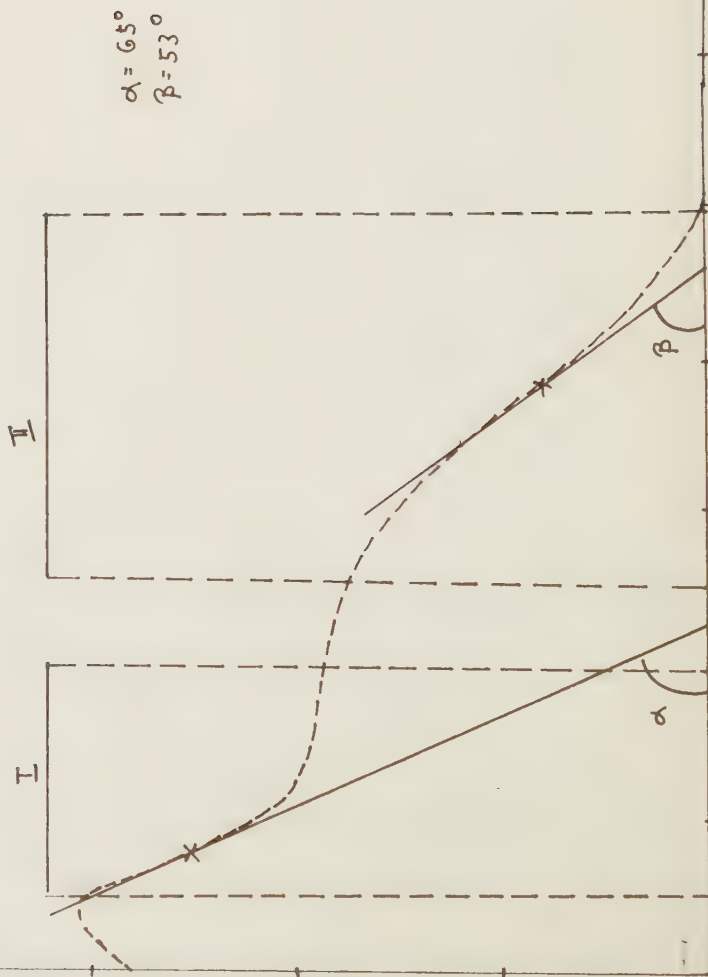
$\alpha = 77^\circ$

-69-

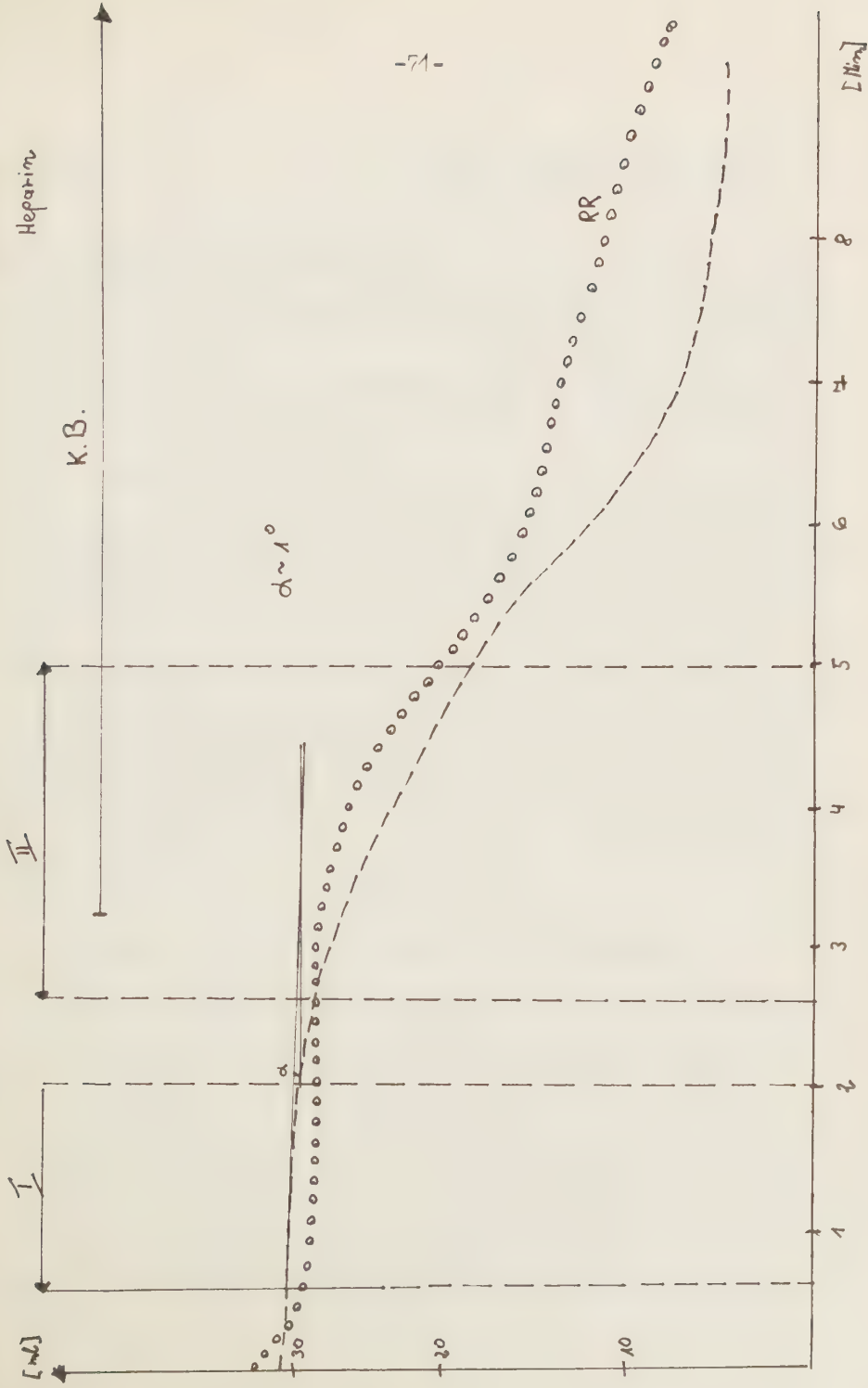


21.3.75
 Ø Heparin

-70-



22.5.45
Heparin



171

2. Zusammenfassende Beschreibung

Definiert man-mehr oder weniger willkürlich-zwei zeitliche Phasen I und II(1/2Min.-2Min. bzw. 21/2Min.-5Min.),so beobachtet man,daß(mit einer Ausnahme)in Phase I eine schnelle Blutstillung erfolgt,unabhängig davon,ob es sich um einen Heparinversuch handelt oder nicht.

In Phase II wird eine schnelle Abdichtung nur dann erreicht,wenn das Tier nicht heparinisiert ist,d.h. das Fibrinsystem intakt ist.

Der Winkel α ,die maximale Steigung der Blutungskurve,kann als Maß für die Geschwindigkeit des Dichtungsprozesses dienen.

Ab 500 ml Blutverlust fällt der mittlere Blutdruck wesentlich ab,sodaß ein Nachlassen der Blutung jenseits dieses kritischen Blutdruckwertes nicht allein auf die Wandabdichtung zu beziehen ist und die Bestimmung von α keinen für die Dichtungsgeschwindigkeit verwertbaren Parameter ergibt.

Alle Versuche können nur einen Trend beweisen.Es ist selbstverständlich,daß genaue Aussagen aufgrund der geringen Fallzahl (n=5)und der ungenauen Meßmethode vom Standpunkt des Statistikers nicht möglich sind.Das Tiermaterial und unsere Mittel ließen eine statistisch untermauerte,äußerst aufwendige,in-vivo-Untersuchung nicht zu.

F. Diskussion

I. Ergebnisse des Shuntversuches

1. Erfäßbarkeit der primären Proteinschicht im Rasterelektronenmikroskop

Daß Protein, in erster Linie Fibrinogen, den primären Belag auch unserer Dacrongefäßprothese bildet, ist nahezu sicher, nachdem Dutton et al. (1969) und weitere Autoren dies für verschiedene andere Kunststoffe exakt nachgewiesen haben.

Außer einigen granulären Auflagerungen, die man als Zusammenballungen mehrerer Fibrinogenmoleküle interpretieren könnte, fehlt jedoch bei unserem Bildmaterial jede Spur dieses kontinuierlichen Proteinfilms.

Die Erklärung dafür ist höchstwahrscheinlich folgende:

Da die einzelnen Proteinmoleküle (mittlerer Durchmesser von Fibrinogen $50-500\text{\AA}$ (93)) im Rasterelektronenmikroskop, das nur bis zur Vergrößerung von ca. 10 000:1 scharfe Bilder liefert, nicht mehr auflösbar sind, erscheint der Proteinteppich glatt. Ähnlich wie die aufgedampfte Goldschicht entzieht sich der Eiweißfilm so dem optischen Nachweis.

Unsere Aufarbeitungsmethode führt zur Denaturierung des Proteins, niemals aber zum völligen Verschwinden.

2. Zeitpunkt der frühesten Adhäsion von Thrombozyten

In blutdurchströmten Kunststoffkammern beobachteten Lyman et al. (1970) (34) und Voruntersucher nach 30 Sekunden Strömungszeit adhären te Thrombozyten. Untersuchungen zu früheren Zeitpunkten wurden erstmalig von uns durchgeführt. Bereits nach 24 Sekunden Durchströmungszeit konnten wir auf der Dacronoberfläche adhären te Blutplättchen sehen. Obwohl wir keine noch kürzer durchströmten Prothesen untersuchten, rechtfertigt die große Anzahl adhären ter Plättchen schon zu diesem Zeitpunkt und die Tatsache, daß die Visköse Metamorphose oft weit fortgeschritten ist die Annahme, daß bereits vor Ablauf von 24 Sekunden Thrombozyten adhären t werden.

3. Wirksame Parameter für das Adhärenzwerden der Blutplättchen in unseren Versuchen

a) Oberflächenspannung

Dacron besitzt eine kritische Oberflächenspannung von $\gamma_c = 43$ dyn/cm bei 20°C (32), das heißt es liegt nicht mehr ganz im optimalen Bereich der Baierschen Grafik. Bis zu einigen Minuten Durchströmungszeit spielt γ_c eine Rolle für die Adhäsion von Thrombozyten, dann entsteht ein Thrombozytenbelag, der von γ_c unabhängig bezüglich seiner Dicke ist. (35, 36, 37)

b) Oberflächenladung

Auch für unsere Prothese gilt das in der Literatur beschriebene Konzept des Zetapotentials. Genaue Werte für ζ konnten jedoch für die Grenzfläche Dacron/Blut nicht ermittelt werden.

c) Strömung

An dieser Stelle soll die in der Literaturübersicht gegebene Information zur Diskussion der speziellen Strömungsbedingungen unseres Modells und deren Rolle für das Thrombozytenverhalten verwendet werden.

Reduziert man unser Prothesenmodell auf die strömungsdynamisch wirksamen Grundformen, so ergibt sich folgendes Schema:



Im Segment I wird die Dilatation nach dem Übergang Schlauch-Prothese symbolisiert, Segment II zeigt die Poren von $500-200 \cdot 10^{-6}$ m Durchmesser zwischen den Fäden dargestellt als Seitenäste eines

Gefäßes. Die Halbkugeln in Segment III symbolisieren das Oberflächenprofil aufgrund der Fadenrundung. Das Dreieck IV stellt ein wesentliches Strömungshindernis aufgrund der Ziehharmonikastruktur der Gefäßprothese dar.

Es lassen sich zwei hypothetische Flußmodelle entwerfen, von denen letzteres wahrscheinlicher erscheint und für das die nun folgenden Überlegungen gelten:

- a) Bei einer Reynoldsschen Zahl Re 100-1200 dürfte in der gesamten Prothese Turbulenz herrschen, die als völlig ungeordnete Strömung imponiert.
- b) Bei kleinerer Reynoldsschen Zahl entsteht in der Kernzone eine laminare Strömung mit zentral abgeplattetem Geschwindigkeitsprofil aufgrund des hohen Zellgehaltes (55,57), die dann in eine periphere Schicht mit randständigen, relativ geordneten, schleifenförmigen Turbulenzen übergeht. Ganz dicht an der Wand befindet sich wieder eine laminare Schicht (57). Die schleifenförmigen Turbulenzen entstehen durch das Einwirken der strömungsdynamisch wirksamen Elemente I-IV.

Zwei Momente sind es, die Adhäsivität und Aktivierungszustand der Plättchen in Randnähe beeinflussen:

- a) Der laminare Fluß erreicht in unmittelbarer Wandnähe die maximale Schubspannung, wie dies aus der 1. Ableitung des Paraboloids ersichtlich ist. Dadurch kommt es zur Aktivierung der Thrombozyten (1,56,49) und zur nachfolgenden Viskösen Metamorphose.
- b) In den Schleifen häufen sich Thrombozyten an und bleiben auch lange im selben, abgrenzbaren Bereich. Adrenalin, ADP, ATP, später auch Thrombin sind primär sicher schon in geringen Konzentrationen vorhanden. Dies führt nach Art einer Kettenreaktion zum massiven Auftreten der Viskösen Metamorphose und der Plättchenaktivierung.

All dies bewirkt eine erhöhte Klebrigkeit der Thrombozyten in Wandnähe und begünstigt die Abdichtung der Prothese. Nun muß nur noch ein Thrombozyt in Wandnähe kommen. Dafür entscheidend sind Strömungs- und Diffusionskräfte.

4. Rolle der Thrombozyten bei der Abdichtung der Prothese

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen, die sich mit dieser Problematik auseinandersetzen, fehlten bislang.

Wenn in der Literatur von der primären Abdichtung einer Kunststoffgefäßprothese die Rede ist, so werden Fibrin(70), Blutkoagula(71) oder ein Fibringerüst(72) dafür verantwortlich gemacht.

In unseren Versuchen läßt sich zeigen, daß Thrombozyten über vier prinzipielle morphologische Mechanismen am Dichtungsprozeß mitwirken. Außerdem stellen sie während der Viskösen Metamorphose eine Reihe von Faktoren bereit, die die Fibrinogenese fördern.

Bei der blutdurchströmten Dacronprothese kann man zwei zeitliche Phasen unterscheiden—Phase I (1/2–2 Min.) und Phase II (21/2–5 Min.)—in denen jeweils die maximalen Abdichtungsprozesse ablaufen.

Phase I: Die Dichtung erfolgt auch nach Blockierung des Fibrinsystems, obwohl dieses, wie die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, schon jetzt eine dominierende Rolle spielt. Dies zeigt, daß Thrombozyten mit anderen gefangenen Zellen zusammen einen starken Dichtungseffekt besitzen, der zu einem dem intakten System (ohne Heparinisierung) ähnlichen Kurvenverlauf führt.

Quantitativ läßt sich aus unseren Versuchen nicht ableiten, wie sehr das eine oder das andere Dichtungssystem (Thrombozyten und andere zelluläre Elemente——Fibrin) an der Blutstillung der Phase I mitwirken.

Phase II: Bei Blockierung des Fibrinsystems findet nur noch eine sehr geringe Abdichtung statt, die zu keiner totalen Blutstillung führen kann.

Wie in Phase I dominiert rasterelektronenmikroskopisch das Fibrin mit eingefangenen Blutzellen (Leukozyten, Erythrozyten). Das heißt, daß in Phase II die Thrombozyten nahezu keine Rolle für den Abdichtungsprozeß spielen.

Der Befund des Versuches am 21.3.74 weicht von den anderen ab. Wie ist dies zu erklären?

Diese Prothese lag im Blutsee, zusätzlich war die Durchströmung nicht kontinuierlich, da das Blut portionsweise abgeleitet wurde. Außerdem wurde Blut unter hohem Druck rückinfundiert.

Unter derartigen Bedingungen kann es also zum Auftreten des in Bild 5+6 sichtbaren, schichtweisen Aufbaus kommen, wobei nicht gesagt werden kann, welche Parameter im einzelnen zu diesem aus der Reihe fallenden Befund führen.

5. Auftreten des ersten Fibrins

Typische Fibrinnetze mit Membranbildung und Bündelung der Einzel-fäden zu dicken Strängen treten erst nach zwei Minuten Durchströmungszeit auf (Bild 10). Allerdings sieht man bereits nach 30 Sekunden Strukturen, die nahezu sicher Fibrinfäden entsprechen (Bild 7+9).

Dies ist auch zu erwarten, wenn man bedenkt, daß bereits 20-30 Sekunden (bzw. 2-3 Min.) nach Eindringen von Gewebesaft in die Blutbahn lokalisiert (bzw. generalisiert) mit dem Auftreten von Fibrin zu rechnen ist, d.h. die Fibrinogenese im "extrinsic system" schon vor Freigabe der Durchströmung unserer Prothese-nämlich während des Präparationsvorganges-in Gang gekommen ist (98, 99, 11) und zur Bildung von fertigem Fibrin geführt hat.

Da im "intrinsic system" Fibrin durch Oberflächenkontakt erst nach mehreren Minuten in vivo entsteht (98, 99, 11), stammt das beobachtete Fibrin auf der Dacronoberfläche nach 30 Sekunden und selbst noch nach 2 Minuten ausschließlich von der Gerinnung im "extrinsic system", zumal die Gerinnung in ersterem System erst mit Freigabe der Durchströmung und keinesfalls vorher beginnen kann.

Kommt es während eines Versuches zu traumatisch-hämorrhagischen Schock (relativ selten), so tritt dieser immer erst nach längerer Blutungszeit auf. Die dabei im Rahmen der Verbrauchskoagulopathie freiwerdenden Plättchenfaktoren können somit in den ersten Minuten nach Strömungsfreigabe keine Rolle für die Fibrinogenese weder im "intrinsic"-noch im "extrinsic system" spielen.

6. Morphologische Befunde an Blutplättchen und Pseudopodien

Zur Morphologie und zur Größenordnung nicht adhärenter, flottierender Thrombozyten kann hier keine Aussage gemacht werden (siehe Lit. 17, 18, 19, 20).

Der Durchmesser adhärenter Blutplättchen bewegt sich bei unseren Befunden zwischen minimal $1,4 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ ("Knopfform", Bild 11/→3) und maximal $4 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ ("Spiegeleiform", Bild 9/→1 und Bild 7/→6).

Was die Formen betrifft, so finden wir Äquivalente der Typen nach Ruzicka und Fierkens (1971) (15), die allerdings nicht rasterelektronenmikroskopisch definiert sind:

Typ A ₁ und A ₂	: Bild 7, 8 und 9
Typ B ₁ und B ₂	: Bild 11
Typ C	: Bild 10, 11, 12 und 8
Typ D	: nicht auffindbar

Wie Hattori et al. (1969) (17) bei nativen, freien Thrombozyten, sehen wir bei adhärenen Plättchen und Aggregaten ebenfalls glatte Oberflächen (Bild 8, 9) und solche mit Erhebungen bzw. konischen Einziehungen (Bild 6, 7, 8). Außerdem beobachten wir faltige, zerklüftete Oberflächen (Bild 7, 8).

Die sogenannten "Knopf"formen entsprechen den erst kurze Zeit adhärenen Plättchen und sind identisch mit dem noch nicht ausgebreiteten Typ C von Ruzicka und Fierkens (1971). Dies entspricht auch den Beobachtungen von Shimamoto et al. (1973) (19), die die an verletzten Gefäßstellen adhärenen werdenden Thrombozyten alle als "kugelig, mit einigen Pseudopodien" beschreiben.

Die exakte Beurteilung der Pseudopodienlänge fällt schwer, da diese Strukturen rasterelektronenmikroskopisch oft nicht sicher von Fibrinfäden unterscheidbar sind. Das von Haydon (1957) (12) aufgestellte Postulat, daß die Pseudopodien nie länger als das Doppelte des Thrombozytendurchmessers werden, läßt sich anhand der Abbildung 11 eindeutig widerlegen. Während hier der Maximaldurchmesser eines adhärenen Thrombozyten in "Knopf"form ca. $1,4 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ beträgt, erstreckt sich seine längste Pseudopodie über eine Distanz von ca. $4 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ (→3).

In Bild 11 und 7 sieht man auch gut die von Haydon(1957)(12) beschriebenen keulenförmigen Endigungen von Pseudopodien(Bild 11→4/Bild7→4).Andererseits enden die meisten Fortsätze konisch zulaufend(Bild 11→5/Bild7→3),aber stumpf.

Warren(1971)(14)beschreibt zunächst das Auftreten von dünnen, fädigen und dann erst von dickeren Pseudopodien während der Viskösen Metamorphose.Wenn die dünnsten Filamente in Bild 9 Pseudopodien sind(→1,→2)-was äußerst unwahrscheinlich ist-,so treten nach 30 Sekunden sowohl dünne als auch dicke Pseudopodien auf , eine zeitliche Reihenfolge ist aber aus allen unseren Versuchen nicht zu ersehen.Handelt es sich hingegen um Fibrinfäden(nahezu sicher),so sehen wir überhaupt kein optisches Korrelat dieser Auffassung.

Daß es von dünnen Pseudopodien bis zu dickeren eine Menge Zwischenformen gibt,zeigt Bild 11(→6).

Insbesondere in Bild 9 beobachtet man eine Struktur,die nicht ganz eindeutig dem Fibrin oder den Pseudopodien zugeordnet werden kann(Typ II der Fäden).Die charakteristischen morphologischen Eigenschaften seien zusammengestellt:

1. relativ dünnes Kaliber,spitz zulaufende Endigung
2. Bündelung zu dickeren Strängen(Bild 9 →8)
3. relativ große Länge
4. manchmal Kontinuität mit Thrombozyten,d.h. Ansatz am Thrombozytenkörper bzw. eine dicke Pseudopodie geht plötzlich in ein dünneres Kaliber über(Bild 9 →7,9)
5. Überkreuzung von Pseudopodien(Bild 7→5)
6. gestreckter Verlauf(Bild 7→2)
7. gleichbleibende Dicke über lange Strecken(Bild 7→2), falls es nicht zur Bündelung kommt
8. angedeutete Membranbildung

Diese Punkte unterscheiden die Fäden vom Typ II in vieler Hinsicht,aber nicht immer,von typischen Pseudopodien(Fäden vom Typ II),deren Merkmale gegenübergestellt werden sollen:

1. relativ dickes Kaliber,Ende stumpf+konisch oder keulenförmig
2. keine Bündelung
3. relativ geringe Länge

4. wie bei Typ II Membranbildung, jedoch großflächigerer Art, möglich (Bild 8 → 6)
5. Überkreuzungen untereinander beobachtbar (Bild 7 → 7)
6. Verlauf korkenzieherartig geschlängelt (Bild 9 → 10)
7. Kaliberschwankungen über größere Strecken

Deshalb nehmen wir an, daß es sich bei den beiden Fadentypen (I und II) um zwei prinzipiell unterschiedliche Strukturen -Pseudopodien und Fibrinstränge- handelt.

Die ausgeprägten Fibrinnetze hingegen sind unverkennbar (Bild 10, rechts oben).

Warren (1971) (14) beobachtet eine Aggregatbildung von Thrombozyten ohne vollständig durchlaufene Visköse Metamorphose. Bild 10 scheint einen solchen Vorgang zu zeigen.

Ob, wie Warren (1971) behauptet, Plättchen in Fibrinnetzen weniger Pseudopodien haben als isolierte, läßt sich aufgrund der schlechten rasterelektronenmikroskopischen Unterscheidbarkeit beider Strukturen nicht überprüfen.

Wie schon Haydon (1957) und Castaldi et al (1962) (16) beschreiben, ist das gerinnungsfördernde Prinzip der Thrombozyten diffus wirksam. Dies bestätigen auch unsere Befunde, da in vielen Fällen Fibrin unabhängig von benachbarten Thrombozyten auftaucht (Bild 9, rechte untere Ecke).

7. Einfluß des Schockgeschehens und des extrakorporalen Kreislaufs auf das Versuchsergebnis

Daß bei beiden zur Dokumentation verwendeten Shuntversuchen ein traumatisch-hämorrhagischer Schock infolge Gewebsläsion und Blutverlust stattfindet, ist denkbar (siehe Versuchsprotokoll). Daher sind die entsprechenden Veränderungen bei der Interpretation der Versuche in Rechnung zu stellen (29, 30).

Dies ändert aber nichts am Wesen des Abdichtungsmechanismus. Die Adhäsivitätserhöhung und die Aggregabilitätserhöhung würden den Abdichtungsprozess stützen, die auftretende Thrombozytopenie diesen hemmen. Das biphasische Auftreten von Thrombozytenaggregaten im Kreislauf dürfte die Abdichtung der Prothese fördern.

Sicher kann man keinen Vergleich mit der Situation bei der Herz-Lungenmaschine anstellen, da hier Shuntvolumen, Shuntdauer, Kontaktfläche Fremdkörper/Blut ganz andere Dimensionen besitzen. Ganz auszuschließen ist aber ein ähnlicher Einfluß auf die Thrombozyten in unseren Versuchen nicht, allerdings nur andeutungsweise. Rechtsverschiebung, Zunahme der Aggregations- und Adhäsionsneigung von Blutplättchen würden den Abdichtungsmechanismus als solchen ebensowenig ändern wie das Schockgeschehen.

II Ergebnisse der Implantationsversuche

1. Auftreten der ersten Neoendothelzellen

Nach 14 Tagen Implantationszeit läßt sich nach unseren Ergebnissen eindeutig ein nicht vollständig geschlossenes Neoendothel nachweisen. De Bakey et al. (1964) (70) zeigen am Schwein dies bereits nach 7 Tagen. Unsere Versuche zu vergleichbaren Zeiten scheiterten.

Ob sich später, wie bei De Bakey et al. (1964), die Neoendotheldecke vollständig schließt, kann nicht beurteilt werden, da der entsprechende Langzeitversuch mißlang.

2. Struktur der Neointima im Rasterelektronenmikroskop

Unser Ergebnis stimmt im wesentlichen überein mit dem von Maurer et al. (1973) (78) an Bastardhunden und weicht erheblich vom Bild normaler Gefäßoberflächen, wie sie Hess und Frost (1969) (4) und Reumuth und Becker (1968) (79) beschreiben. Der Satz von Paschold (1966) (71), daß die organisierte Prothese (nicht nur was die Gefäße betrifft) nur ein Regenerat ist, stimmt also.

Wie bei Maurer et al. (1973) sind die Neoendothelzellen rund, nicht wie bei der intakten Intima spindelförmig, und besitzen keine axiale Ausrichtung. Granuläre und fädige Auflagerungen sind ebenfalls in beiden Befunden zu sehen, wenngleich sie Maurer et al. (1973) nicht beschreiben.

Bei stärkerer Vergrößerung können wir erstmalig zeigen, daß das

Neoendothel zum größten Teil von Thrombozyten bedeckt ist, die sich in allen Stadien der Viskösen Metamorphose befinden. Fibrin beteiligt sich ebenfalls mit höchster Wahrscheinlichkeit an diesem Oberflächenteppich.

Die Schwankungsbreite des Neoendothelkerndurchmessers beträgt bei uns $18-11 \cdot 10^{-6} \text{ m}$, im Gegensatz zu $12-18 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ bei den Versuchen von Maurer et al. (1973) und $14-16 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ bei der normalen Gefäßoberfläche (Hess und Frost 1969).

Wir sind wie Maurer et al. (1973) der Meinung, daß es sich bei der Neointima um noch nicht ganz ausdifferenzierte Endothelzellen handeln könnte, die sich später unter dem Einfluß der Strömung in ihrer Morphologie den normalen Endothelzellen angleichen. Der Beweis dafür fehlt bisher allerdings.

Bei den von uns beschriebenen Oberflächentypen II und III könnte es sich unserer Meinung nach um Vorstufen des Typs I handeln.

3. Thrombosierung der Implantate

Die hohe Thromboserate unserer Implantate ist auf folgende Ursachen zurückzuführen:

1. schwierige Technik der Anastomosierung
2. progrediente Dickenzunahme der Neointima insbesondere beim Schwein (70)
3. kleine Lumina der Prothesen

III. Interpretation des quantitativen Versuches

Vergleichbare Literatur findet sich hierzu nicht. Die Interpretation dieses Versuchsmodells wurde schon unter F I 4. geleistet.

G. Zusammenfassung

An neun Hanford-Miniaturschweinen (Gewicht 29-89kg, 3 männlich, 6 weiblich) führten wir drei Versuchstypen durch.

1. Durchströmung von sich im extrakorporalen, arteriovenösen Shunt befindlichen, nicht "preclotteten" Dacron-gefäßprothesen und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der inneren Prothesenoberfläche nach zeitlich gestaffelten Strömungszeiten.
2. Kontinuierliche Messung des Blutverlustes durch derartige Prothesen im extrakorporalen Shunt bei heparinisierten bzw. nichtheparinisierten Versuchstieren und grafische Darstellung der verlorenen Blutmengen innerhalb definierter Intervalle als Funktion der Zeit.
3. Implantation von nicht "preclotteten" Dacrongefäßprothesen nach den Regeln der Gefäßchirurgie und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Neointima nach 14 Tagen Verweildauer.

Morphologisch gesehen ist der Abdichtungsprozess eine gemeinsame Leistung von Fibrin, Thrombozyten und anderen Zellen des fließenden Blutes, wobei das Fibrinnetz mit den integrierten Erythrozyten und Leukozyten zu jedem Zeitpunkt die wesentlichste Einschränkung der Porenweite bewirkt. Die Thrombozyten beteiligen sich jedoch mit verschiedenen Formationen am Abdichtungsvorgang.

Ohne Fibrin, wie dies durch Heparinisierung des Blutes bewirkt wird, kann der Abdichtungsprozess nach ca. 3 Minuten nicht mehr weiterschreiten - die Tiere verbluten.

Die Messung des Blutverlustes als Funktion der Zeit zeigt, daß die Abdichtung bei intaktem Gerinnungssystem kein kontinuierlicher Vorgang ist, sondern zwei Phasen mit maximaler Blutstillung aufweist, von denen erstere (1/2 - 2 Min. nach Freigabe der Strömung) bei Blockierung des Gerinnungssystems weiterhin beobachtet werden kann, die zweite (2 1/2 - 5 Min. nach Freigabe der Strömung) dagegen nach Heparinisierung des Blutes ausfällt.

Phase I ist somit eine gemeinsame Leistung des Thrombozyten- und des Gerinnungssystems, Phase II vorwiegend Ausdruck der Fibrinogenese.

Die implantierten Gefäße zeigen nach 14 Tagen—die Versuche mit 8, 10 und 47 Tagen scheiterten infolge Thrombosierung und narbiger Striktur des Implantates—drei Oberflächentypen(I-III) Typ I stellt eine Necintima dar, wie sie schon Maurer et al.(1973) , allerdings an Basterdhunden beschreiben. Eine völlig geschlossene Neoendothelschicht kommt in unseren Versuchen nicht zustande. Neuartig ist die Beobachtung eines stellenweise das Neoendothel bedeckenden Thrombozyten-Fibrin Belages.

Ein besonderes Anliegen dieser Arbeit ist auch die Beschreibung der mannigfaltigen Morphologie von Thrombozyten und Fibrin.

Die geringe Fallzahl und die Tatsache, daß die Versuchstiere auch für andere Versuchsmodelle(Arterioskleroseentstehung infolge Rauchen, Cholesterinfütterung und Diabetes)verwendet wurden, schränken die Aussagekraft dieser Ergebnisse bezüglich ihrer statistischen Stichhaltigkeit wesentlich ein.

H. Bildteil

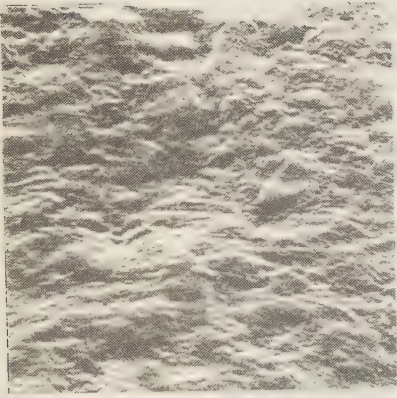


Bild 1

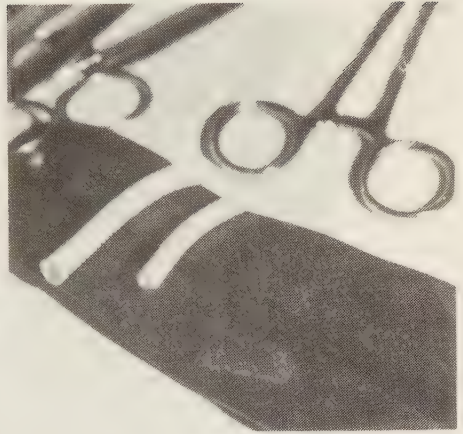


Bild 2a



Bild 2b
Vergrößerung 110 x

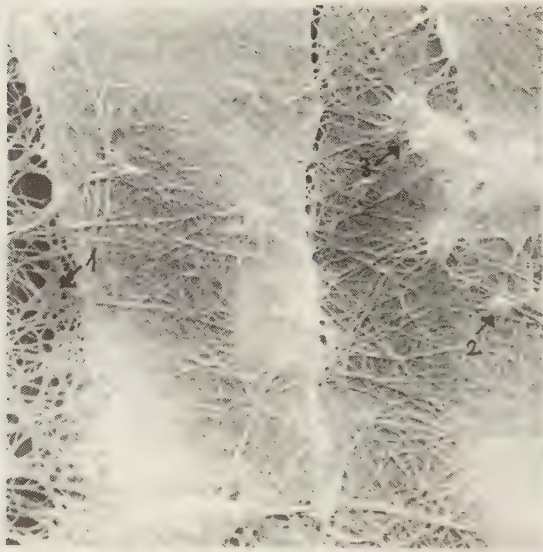


Bild 3

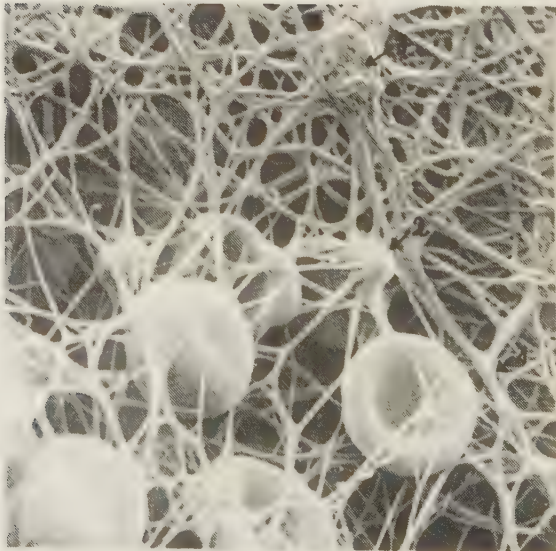


Bild 4

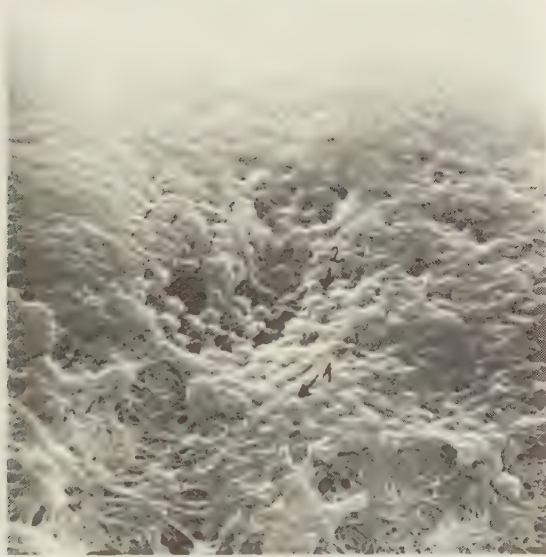


Bild 5

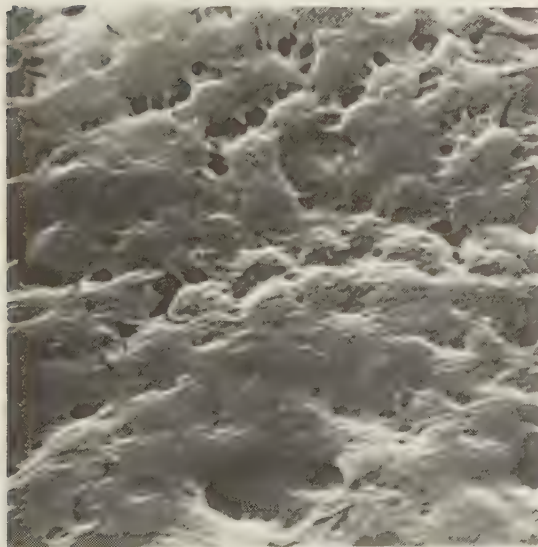


Bild 6



Bild 7



Bild 8



Bild 9



Bild 10



Bild 11



Bild 12



Bild 13

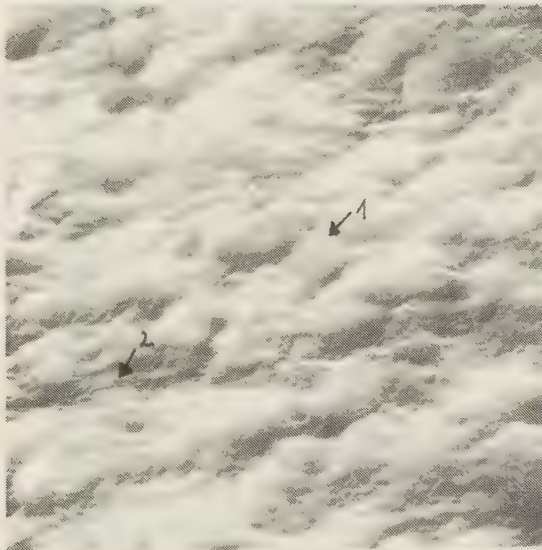


Bild 14



Bild 15

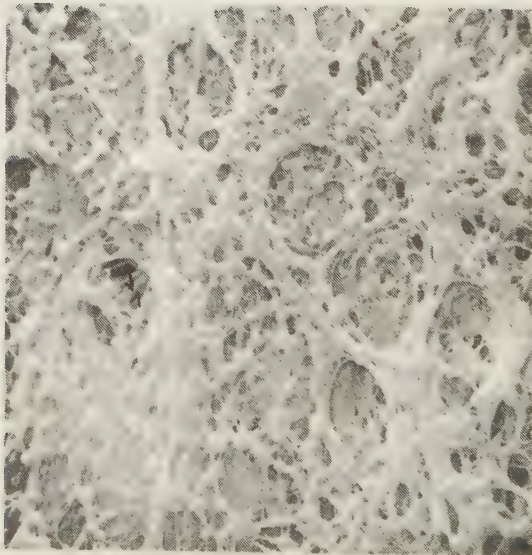


Bild 16



Bild 17

Die im Text angegebenen Vergrößerungen beziehen sich auf die Originalbilder, welche im "Bildteil" im Maßstab 1 : 2 verkleinert dargestellt werden.

I. Literaturübersicht

1. Hess, H.,
Marshall, M.
Mellasch, M.
Zur Pathogenese obliterierender Arteriopathien:
Med. Welt 25:1180-1185(1974)
2. Hess, H.
Neue Überlegungen zur Physiopathologie ob-
literierender Angiopathien
Fortschritte der Med. 88:913-928(1970)
3. Hess, H.,
Marshall, M.
Zur Verhütung von Thrombozytenabscheidung durch
ASS(Colfarit)-tierexperimentelle Untersuchun-
gen
Therapeutische Berichte 1/75 Bayer-Leverkusen
47:15-22(1975)
4. Hess, H.
Frost, H.
Argumente für eine einheitliche Pathogenese
polyätiologischer arterieller Verschlußpro-
zesse
Verh. dtsh.Ges.Kreisl.-Forschg.Dr. D.Stein-
kopff-Verlag, Darmstadt 1969
5. Marshall, M.
Hess, H.
Mellasch, M.
On the content fo Biogenous Amines in Several
Arteries of the Miniature Pig
Res.exp.Med.161:210-223(1973)
6. Beier, R.E.
Loeb, G.J.
Wallace, G.T.
Role of an artificial boundary in modifying
blood proteins
Fed.Proc.30:1523-1537(1971)
7. Nossel, H.L.
Platelets, Surfaces and Plasma Proteins in
Platelet Adhesion
Symp., Hamilton 1972, 15-26, Karger, Basel 1975
Aus: Platelets, Drugs and Thrombosis
8. Charles, S.P.J.
Packham, M.A.
Guccione, E.A.
Mustard, J.F.
Modification of platelet adherence to protein-
coated surfaces
J.Lab.Clin.Med.81:280-289(1973)

9. Packham, M.A.,
Evans, G.,
Glynn, M.F.,
Mustard, J.F. The effect of plasma proteins on the interaction of platelets with glass surfaces
J. Lab. Clin. Med. 73: 686-697 (1969)
10. Behnke, O. An electron microscope study of the megacaryocyte of the rat bone marrow. I. The development of the demarcation membrane system and the platelet surface coat
Journ. of Ultrastructure Research 24: 412-420 (1968)
11. Hardisty, R.M.,
Weatherall, D.J. Blood and its Disorders
Blackwell Scientific Publications 1974
Chapter 6: The haemostatic mechanism
12. Haydon, G.B. Electron Microscopic Observations of Blood Platelets and Fibrin Formation
A.M.A. Archives of Pathology 64: 393-397 (1957)
13. Behnke, O. Electron Microscopical Observations on the Surface Coating of Human Blood Platelets
J. Ultrastruc. Res. 24: 51-69 (1968)
14. Warren, B.A. The Platelet Pseudopodium And Its Involvement in Aggregation And Adhesion To Vessel Walls
British Journal of exp. Path. 52: 378-383 (1971)
15. Ruzicka, F.,
Fierkens, D. Thrombozyteneubereitungstest im Elektronenmikroskop
Thromb. Diath. haemorrh. 25: 1-13 (1971)
16. Castaldi, P.A.,
Firkin, B.G.,
Blackwell, P.M.,
Clifford, K.J. An Electron Microscopic Study of the Changes in Platelets during Viscous Metamorphosis
Blood 20: 566-580 (1962)
17. Hattori, A.,
Tokunaga, J.,
Fujita, T.,
Matsuoka, M. Scanning Electron Microscopic Observations on Human Blood Platelets and Their Alterations Induced by Thrombin
Arch. histolog. jap. 31: 37-54 (1969)

18. Murphy, M. J. The Shape of Blood Platelets
An Application of Lyophilisation and Scanning
Electron Microscopy
Thromb. Diath. haemorrhag. 38:237-243(1972)
19. Shimamoto, T. Scanning Electron Microscopic Observation of
Yamazaki, H. Platelets in Hemostasis
Shimamoto, T. Thromb. Diath. haemorrh. 29:168-181(1973)
20. Hovig, T. Blood Platelet Surface and Shape
Scand. J. haemat. 7:420-427(1970)
21. Holmsen, H., Adenine nucleotide metabolism of blood plate-
Day, H. J., lets
Storm, E. VI. Subcellular localisation of nucleotide pools
with different functions in the platelet re-
lease reaction
Biochimica et Biophysica Acta 186:254-266(1969)
22. Milles, D. C. B., The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine
Robb, I. A., and enzymes from human blood platelets during
Roberts, G. C. K. aggregation
Journal of Physiology 195:715-720 (1968)
23. Bettex-Galland, M., Dissociation of thrombosthenin into two com-
Fortzehl, H., ponents comparable with actin and myosin
Lüscher, E. F. Nature 193:777-786(1962)
24. Zucker-Franklin, D., Ultrastructure of thrombosthenin, the contrac-
Nachman, R. L., tile protein of human blood platelets
Marcus, A. J. Science 157:945-966(1967)
25. Booyse, F. M., Human platelet contractile proteins: location,
Rafelson, M. E. pr^operties and function
Series Haematologica 4:152-172(1971)
26. Nachman, R. L. Immunologic studies of platelet protein
Blood 25:703-711(1969)
27. Mürer Observations on the Platelet Release Reaction
Day, H. J. Aus: Platelet, Drugs and Thrombosis
Symp., Hamilton 1972, 1-21, Karger, Basel 1975

28. Day, H. J.,
Holmsen, H.
Concepts of the blood platelet release reaction
Series Haematologica 4:3-28 (1971)
29. Remmele, W.,
Loew, D.
Pathophysiologie der Thrombozyten im Schock
Klin. Wochenschrift 51:3-9(1973)
30. Loew, D.,
Wiedemann, R.,
Remmele, W.
Gerinnungsanalytische und pathologisch-anatomische Untersuchungen beim traumatischen Schock
Klin. Wochenschrift 49:1101-1108(1971)
31. Encke, A.,
Hissen, W.,
Fichter, M. F.
Der Einfluß des extrakorporalen Kreislaufs auf die Thrombozytenfunktion beim Menschen
Med. Welt 23:28-29(1972)
32. Baier, R. E.
The Role Of Surface Energy In Thrombogenesis
Bull. N. Y. Acad. Med. 48:257-271(1972)
33. Zisman, W. A.
Relation of Equilibrium Contact Angle to Liquid and Solid Constitution
Advances in Chemistry Series 43:1-44 (1964)
Washington, D. C., Amer. Chem. Soc.
34. Lyman, D. J.,
Klein, K. G.,
Brash, J. L.,
Fritzinger, B. K.
The Interaction of Platelets with Polymer Surfaces
I. Uncharged Hydrophobic Polymer Surfaces
Thromb. Diath. haemorrh. 23:121-128(1970)
35. Dutton, R. C.,
Baier, R. E.,
Dedrick, R. L.,
Bowman, D. A.
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 14:57-68 (1968)
36. Friedman, L. J.,
Liem, H.,
Grabowski, W. F.,
Leonard, W. F.,
Mc Cord, C. W.
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 16:63-77 (1970)
37. Fetschek, H. E.,
Adams, D.,
Kantrowitz, A.
AVCO Everett Res. Lab. Report: 314 -365(1968)
38. Sawyer, P. N.,
Srinivasan, S.
The Role of Electrochemical Surface Properties in Thrombosis at Vascular Interfaces: Cumulative Experience of Studies in Animals and Man

Bull.N.Y.Acad.Med.48:235-255(1972)

39.Abramson,H.A.

The electric charge on blood cells of the horse and the relationship to the inflammatory process

Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 1:92-188(1933)

40.Schalldach,M.

Elektrochemische Kriterien bei der Auswahl von Materialien für den Gefäß-und Klappenersatz
Verh.Dtsch.Ges.Kreislauf-Forschung 36:69-76 (69-76)

41.Matthews,D.B.,
Catlin,A.

Electrochemical Aspects of the Interaction Between Material and Blood
J.Electrochemical Sci.114:221-233(1967)

42.Sawyer,P.N.,
Srinivasan,P.

Studies on the Biophysics of Intravascular Thrombosis
Amer.J.Surg.114:42-59 (1967)

43.Weiss,L.

Biophysical aspects of initial cell interaction with solid surfaces
Fed.Proc.30:1649-1656(1971)

44.Dawber,J.G.,
Roberts,J.C.

An Electrical Double Layer Theory for Platelet Adhesiveness and Initiation of Intravascular Thrombosis
Thromb.diath.haemorrh.19:451-461(1969)

45.Grötum,K.A.

Platelet surfaces charge and aggregation
Thromb.Diath.haem.21:450-462(1971)

46.Allison,A.C.,
Valentine,R.C.

Biochim.Biophys.Acta 40:400-430(1960)

47.Hesse,G.

Physikalische Grundlagen
Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main 1962, 89-99

48.Leonard,E.F.

The Role of Flow in Thrombogenesis
Bull.N.Y.Acad.Med.Vol.48:273-281(1972)

49.Goldsmith,H.L.

Blood Flow and Thrombosis
Thromb.Diath.haemorrh.32:35-48 (1974)

50. Yu, S.K.,
Goldsmith, H.L.
Some Rheological Aspects of Platelet Thrombosis
Aus: Platelets, Drugs and Thrombosis Symp.,
Hamilton 1972, 78-93, Karger, Basel 1975
51. Pasch, Th.
Die Bedeutung strömungsmechanischer Faktoren
für die Entstehung der Atherosklerose
Herz/Kreislauf 6 :675-680(1974)
52. Brenner, H.,
Bungay, P.M.
Rigid-particle and liquid-droplet models of
red cell motion in capillary tubes
Fed. Proc. Vol. 30:1565-1575(1971)
53. Chaffey, C.E.,
Brenner, H.,
Mason, S.G.
Particle Motions in Sheared Suspensions
XVIII: Wall Migration (Theoretical)
Rheologica Acta 4:64-72(1965)
54. Karnis, A.,
Mason, S.G.
Particle Motions in Sheared Suspensions
XXIII: Wall Migration of Fluid Drops
Journ. of Colloid and Interface Science 24:
144-159(1967)
55. Karnis, A.,
Goldsmith, H.L.,
Mason, S.G.
The Kinetics of Flowing Dispersions
I. Concentrated Suspensions of Rigid Particles
Journal of Colloid and Interface Science 22
:531-553(1966)
56. Schmid-Schönbein, H.,
Schildkraut, G.
Microscopy and viscometry of blood flowing
under uniform shear rate
Journ. of Applied Physiology 26:674-678(1969)
57. Blackshear, F.L. Jr.,
Forstom, R.J.,
Dorman, F.D.,
Voss, G.O.
Effect of flow on cells near walls
Fed. Proc. 30:1600-1609(1971)
58. Davie, E.W.,
Ratnoff, O.D.
Waterfall sequence for intrinsic blood clotting
Science 145:1310-1318(1964)
59. Macfarlane, R.G.
An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier
Nature 202:498-505(1964)

60. Seegers, W.H. Basic enzymology of blood coagulation
Thromb. et Diath. haemorrhagica 14:213(1965)
61. Begemann, H., Klinische Hämatologie
Rastetter, J., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970
Kaboth, W.
62. Papahadjopoulos, D., Observations on the interaction of phospho-
Hanahan, D.J. lipids and certain clotting factors in pro-
thrombin activator formation
Biochimica et Biophysica Acta 90:436-444(1964)
63. Caspary, E.A., Observations on the molecular weight of human
Keckwick, R.A. fibrinogen
Biochemical Journal 67:41-50(1957)
64. Blomback, B. The N-terminal disulfide knot of human fibri-
nogen
British Journ. of Haematology 16:145-150(1969)
65. Laki, H., On the solubility of Fibrin clots
Lorand, L. Science 108:280-283(1948)
66. Bergström, K., Large-scale production of intermediate-pu-
Tse, A.O. rity, soluble human plasminogen
Johnson, A.J. Thromb. et Diath. Haemorrh. 25:105-111(1971)
67. Summaria, L., The specific mechanism of activation of human
Sich, B., plasminogen to plasmin
Robbins, K.C. Journ. of Biolog. Chemistry 18:374(1967)
68. Todd, A.S. Localisation of fibrinolytic activity in
tissues
British Medical Bulletin 20:210-222(1964)
69. Warren, B.A. Fibrinolytic activity of vascular endothelium
British medical Bulletin 20:213-217(1964)
70. De Bakey, M.E., Basic biologic Reactions to Vascular Grafts
Jordan, G.L. Jr., and Prostheses
Beall, A.C., Surgical Clinics of North America, 1964
O Neal, R.M.,
Abbott, J.P.,
Malpert, B.

71. Paschold, K. Histologische Untersuchungen über die Vascularisation der Gefäßwand nach Implantation von Arterienprothesen
Arch.klin.Chir.315:135-145(1966)
72. De Bakey, M.E.,
Jordan, G.L.Jr.,
Abott, J.P.,
Halpert, B.,
O Neal, R.M.,
73. Stampfl, B. The Fate of Dacron Vascular Grafts
Arch.of Surg.89:757-782(1964)
Obliterationsvorgänge in Kunststoffgefäßplastiken
Aus H.Hess:Die obliterierenden Gefäßerkrankungen, Urban u.Schwarzenberg, M^h.1959, 162-167
74. Kulenkampff, H.,
Simonis, G. Zur Frage der biologischen Verträglichkeit von Gefäßprothesen aus Dacron und synthetischem Fadenmaterial
Chirurg 47:189-192(1976)
75. Sperling, M. Die Problematik des arteriellen Gefäßersatzes
Med.Klin.71:1587-1593(1976)
76. Wesolowski, D.A. Evaluation of tissue and prosthetic vascular grafts
Ch.C.Thomas, Springfield 1962
77. Petry, G.,
Heberer, G. Die Neubildung der Gefäßwand auf der Grundlage synthetischer Arterienprothesen
Langenbecks Arch.u.Dtsch.Z.Chir.286:249-290 (1957)
78. Maurer, P.
Scherer, H.,
Frost, H.,
Blümel, G. Arterienprothesen aus menschlicher Dura
Einheilung und Umbau, Rasterelektronenmikroskopie und Fibrinolyseautografie des Transplantatendothels
Vasa 2:28-33(1973)
79. Reumuth, H.,
Becker, V. "Stereoscan", ein neues Elektronenmikroskop.
Erste anatomische Bilder. Zugleich ein Beitrag zur Blut-Gefäßwand-Beziehung
Klinische Wochenschrift 46:1099-1103(1968)

80. Hoopes, J.E.,
Watts, R.W.
Siliconized Synthetic Grafts
Functional and Histologic Observations
Arch. of Surg. 88:421-424(1964)
81. Wesolowski, S.A.,
Fries, C.C.,
Karson, K.E.,
De Bakey, M.E.,
Sawyer, P.N.
Porosity: primary determinant of ultimate
fate of synthetic vascular grafts
Surgery 50:91-96(1961)
82. Krajicek, M.,
Hejnal, J.,
Zastava, V.
The limits to the Role of Porosity for the
Development of Degenerative Changes in Vas-
cular Protheses
Exp. Med. Surg. 24:119-125(1966)
83. Bartos, G.,
Toth, J.,
Über den Ursprung der sich an Gefäßprothe-
sen bildenden inneren Kapsel
Acta Chirurgica Acad. Scientiarum Hungaricae
Tomus 9:165-172(1968)
84. Schultz, G.
Die Kunststoffe
Hanser-Verlag. München 1964, 228-229
85. Stoeckert
Kunststoff-Lexikon
5. Auflage 292-293
86. Braun-Dexon AG
Data Chirurgica
Thema: Gefäßprothesen Cooley Graft und Weavenit
zur Rekonstruktion arterieller Gefäße
87. Kselich, J.,
Krumbecher, K.,
Ruf, B.
Über die Erfahrungen bei der Zucht und Haltung
sowie einige physiologische Daten des Hanford-
Miniaturschweines
Zeitschr. für die ges. exp. Med. 145:312-325(1969)
88. Marshall, M.,
Lydtin, H.,
Krewitz, W.,
Hagen, R.,
Schuckert, G.,
Hess, H.,
Zöllner, N.,
Das Miniaturschwein als Versuchstier in der
experimentellen Medizin
Haltung, operative Präparationen, Versuchsdurch-
führung und Normalwerte
Res. exp. Med. 57:300-312(1972)

89. Dahme, E. Das Schwein in der Arterioskleroseforschung
Zeitschr. für die ges. exp. Med. 145:305-311(1968)
Praktische Hämatologie
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1974
90. Begemann, H.,
Harwerth, H. G. Zur Behandlung von Verschlüssen der Beinarterien mittels Kunststofftransplantaten
Aus: H. Hess: Die obliq. Gefäßerkrankungen, Mü.
1959, 387-404
91. Schlicht, L. Untersuchungen zur Pathogenese der arteriellen
Verschlusskrankheit
I. Eine neue Methode zum Studium früher Veränderungen auf der Gefäßwand
Klin. Wochenschrift 46:1099-1103(1968)
92. Frost, H.,
Hess, H.,
Richter, I. Kurzes Lehrbuch der Biochemie
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1972, 50
93. Karlson, P. Positively charged amino groups on the surface of normal and cancer cells
Europ. J. Cancer 6:127-137(1970)
94. Mehrishi, J. N. Phosphate groups receptors on the surface of human blood platelets
Nature 226:452-453(1970)
95. Mehrishi, J. N. Sulphydryl groups on the surface of intact Ehrlich ascites tumor cells, human blood platelets and lymphocytes
Nature 224:563-564(1969)
96. Mehrishi, J. N.,
Grassetti, D. Sialic acid on human blood platelets
J. clin. Invest. 43:870-877(1964)
97. Medoff, M. A.,
Ebbe, S.,
Baldini, M. Kurzes Lehrbuch der Physiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976, 3. Auflage
31-38
98. Keidel, W. D.

99. Kaboth, W.,
Begemann, H.

Blut

Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Balti-
more, 2. Auflage, 1977
98-104, 134-151

Lebenslauf

Am 21.5.1951 wurde ich, Gerhard-Ludwig Lisson, als Sohn des Maurers Konrad Lisson und dessen Ehefrau Ludwina, geb. Freitag, in Iffeldorf, Kreis Weilheim-Schongau, geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der heimatlichen Volksschule trat ich 1962 in den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig des Gymnasiums Starnberg ein, wo ich mich im Mai 1971 der Reifeprüfung mit Erfolg unterzog.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich nach einem Praktikum im Städtischen Krankenhaus Penzberg, in dem ich in den Semesterferien noch zweimal medizinisch tätig war, das Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Hier legte ich auch die beiden Teile der Ärztlichen Vorprüfung und den ersten und zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab.

Seit 1972 bin ich Mitglied der Bischöflichen Studienförderung Cusanuswerk.

1974/75 arbeitete ich unter Anleitung von Herrn Dr. Marshall in der Medizinischen Poliklinik München an der vorliegenden Dissertation.

Im Oktober 1977 schloß ich das Staatsexamen in München ab und erhielt die Approbation.

Nach einer Ausbildungszeit von 4 1/2 Monaten in Radiologie am Katharinenhospital Stuttgart bei Herrn Prof. Heuck trat ich am 1. April eine Assistenzarztstelle in der neurologischen Abteilung der Universität Ulm (Leiter Herr Prof. Kornhuber) an.

